

**TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE LOS RESIDUOS VEGETALES DE LA
UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER UTILIZANDO
MICROORGANISMOS ACELERADORES Y LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA
(*Eisenia foetida*) PARA PRODUCIR UN BIOABONO MEJORADO**

FABIOLA ZABALA JOYA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA
BUCARAMANGA
2008**

**TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE LOS RESIDUOS VEGETALES DE LA
UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER UTILIZANDO
MICROORGANISMOS ACELERADORES Y LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA
(*Eisenia foetida*) PARA PRODUCIR UN BIOABONO MEJORADO**

FABIOLA ZABALA JOYA

Tesis de Grado como requisito para optar el título de Bióloga

DIRECTORA:

LUZ AMPARO LOZANO URBINA

M.Sc. EN QUÍMICA Y DIRECTORA DE CICELPA

CO-DIRECTORA:

MARIELA CARREÑO DE ARANGO

M.Sc. MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGÍA

BUCARAMANGA

2008

A Dios de quien recibimos todas sus bondades.
A mi madre por su gran cariño y ayuda incondicional
facilitándome en todos los aspectos los medios para culminar
satisfactoriamente mis estudios.

A mi padre, en memoria.

A mis hermanos y a mi esposo quienes me
transmitieron fuerzas para afrontar la vida con
firmeza y valor.

A mi hijo Juan David,
por ser uno de mis más grandes estímulos de superación.

Fabiola

AGRADECIMIENTOS

A la Doctora Luz Amparo Lozano Urbina, M.Sc. en Química y Directora de Centro de Investigaciones en celulosa, pulpa y papel por su orientación y apoyo en la dirección de este proyecto, pero en especial por su gran amistad y confianza durante el desarrollo de esta Investigación.

A la Doctora Mariela Carreño de Arango, M.Sc. en Microbiología por su orientación y apoyo en la co-dirección de este proyecto.

Al personal del Grupo de Investigaciones en celulosa, pulpa y papel, Jorge y David, por su colaboración en la realización de las pruebas químicas y algunas biológicas.

Al Centro de Innovación en Biotecnología Industrial –CIMBIN- que brindó su gran contribución en todo momento.

A la Universidad Industrial de Santander –UIS- Centro que permitió mi formación profesional.

A todas aquellas personas y entidades que nos brindaron su ayuda para hacer posible la realización de esta investigación.

RESUMEN

TÍTULO: TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE LOS RESIDUOS VEGETALES DE LA UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER UTILIZANDO MICROORGANISMOS ACELERADORES Y LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (*Eisenia foetida*) PARA PRODUCIR UN BIOABONO MEJORADO*

AUTOR: Zabala Joya Fabiola**

PALABRAS CLAVES: residuos vegetales, lombricompostaje, microorganismos, degradación, lignina, humicos, fúlvico.

CONTENIDO:

Los residuos vegetales genera contaminación por la difícil degradación de celulosa, hemicelulosas y ligninas. En la Universidad Industrial de Santander (UIS) son llevados al Relleno Sanitario El Carrasco, pero por estrategias de minimización no recibirán residuos de alimentos ni materiales vegetales. Se están implementando tecnologías para aprovechar estos residuos como el compostaje y el lombricompostaje. Con esta investigación se implementó un proceso para obtener bioabono mejorado higiénicamente sano que regenere tierras en forma natural y económica utilizando microorganismos aceleradores y lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*).

Se realizó caracterización fisicoquímica y microbiológica a los residuos vegetales de la UIS, se estudiaron variables de aireación y enriquecimiento con microorganismos de mayor incidencia en la degradación de los residuos vegetales y finalmente se realizaron ensayos de respuesta biológica con tierra amarilla del suelo de la Universidad evaluándolos en cultivo de *Phaseolus vulgaris*.

Se aislaron bacterias de los géneros *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Serratia*, *Cedaceae*, *Bacillus*, *Kluyvera*, *Acinetobacter* y *Ewingella*, hongos de los géneros *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Candida*, *Geotrichum*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Coprinus* y *Chrysonili*. La aireación y los microorganismos bioaumentados no aceleran la biodegradación de celulosa, su reducción no presentó diferencias significativas entre tratamientos; la reducción de lignina, huminas y producción de húmicos más fúlvicos presentó diferencias significativas, confirmando síntesis de nuevas sustancias húmicas. El LVc es apto para mejorar suelos, aseguró fuerte reducción de patógenos y las plantas presentaron mejor desarrollo. La tierra amarilla presenta textura franco-arcillo-arenosa (60% arena, 12% limo y 28% arcilla), pH de 5,6 y microelementos con funciones reguladoras por debajo de niveles críticos. La mezcla tierra amarilla:LVc (proporción 2:1) adquiere textura franco arenosa (68% arena, 16% limo y 16% arcilla), produciendo buena aireación, conducción de agua, mejoramiento de plasticidad del suelo, aumento del pH regulando las condiciones del suelo.

* Proyecto de Grado

** Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, UIS, Directora Luz Amparo Lozano Urbina. Codirectora Mariela Carreño de Arango.

ABSTRACT

TITLE: BIOLOGICAL TREATMENT OF THE VEGETABLE RESIDUALS OF UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER USING ACCELERATOR MICROORGANISMS AND CALIFORNIAN RED WORM (*Eisenia foetida*) TO PRODUCE AN IMPROVED BIOMANURE *

AUTHOR: Zabala Joya Fabiola**

KEY WORDS: vegetable residuals, lombricompost, oxygenic microorganisms, cellulose decrease lignin degradation, cellulosa degradation.

CONTENTS:

The vegetable residuals generate contamination because of the difficult degradation of cellulose, hemicelluloses and lignin. At Universidad Industrial de Santander (UIS) those residuals are taken to the Sanitary Place El Carrasco, which are receiving neither food residuals nor vegetable materials for minimizing. Technologies are implementing to take advantage of these residuals like the compost and the lombricompost. With this investigation a process was implemented to obtain improved hygienically healthy biomanure which regenerates soil in natural and economic way using accelerator microorganisms and Californian red worm (*Eisenia foetida*).

We carried out the physical chemistry and microbiological characterization to the vegetable residuals of UIS, Air and fortification with microorganisms variables were studied of more incidence in the degradation of the vegetable residuals and finally they were carried out tests of biological answer with soil of the University mixed with LVC evaluating their effectiveness in cultivation of *Phaseolus vulgaris*.

Bacterias of the genus *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Echerichia*, *Serratia*, *Cedacea*, *Bacillus*, *Kluyvera*, *Acinetobacter* and *Ewingella* and fungi of the genus *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Candida*, *Geotrichum*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Coprinus* y *Chrysonili* were isolated. The air and the bioincreased microorganisms increased don't accelerate the cellulose biodegradation, their reduction it didn't present significant differences among treatments; the lignin and humins reduction and the production of humic acids more fulvics acids presented significant differences confirming synthesis of new substances humics. The LVC is suitable to improve soils, it assured strong harmful microorganisms reduction and the plants presented better development. The yellow soil presented frank-clay-sandy texture (60% sand, 12% slim and 28% clay), pH of 5,6 and microelements with regulator functions below the critical levels. The mixture yellow soil:LVC (proportion 2:1) presented frank-sandy texture, producing good air, good conduction of water, improvement of plasticity of the soil, increase of the pH regulating the soil conditions.

* Thesis Project

** Science Faculty, Biology School, UIS, Luz Amparo Lozano Urbina Director. Mariela Carreño de Arango Co-Director.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1 RESIDUOS VEGETALES	3
1.2 LOMBRICOMPOSTAJE	3
1.3 BIODEGRADACIÓN DE CELULOSA, OTROS POLISACÁRIDOS Y LIGNINA.	5
1.4 PROPIEDADES DEL SUELO	8
1.5 POBLACIÓN MICROBIANA Y MACROROGANIMOS	9
2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	11
2.1 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	11
2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL	11
2.3 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS RESIDUOS VEGETALES	12
2.3.1 Tamaño de partícula	12
2.3.2 Temperatura, pH y Humedad.	15
2.3.3 Extraíbles, Celulosa y Lignina	15
2.3.4 Determinación de Nitrógeno.	15
2.3.5 Hidrosolubles	16
2.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	17
2.5 FERTILIZACIÓN DEL SUELO Y APLICACIÓN AGRÍCOLA	18
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
3.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO	19
3.1.1 Caracterización fisicoquímica de los residuos vegetales	19
3.1.2 Caracterización microbiológica de los residuos vegetales	19
3.1.3 Aislamiento de los Microorganismos	19
3.1.4 Curva de crecimiento del grupo de microorganismos bioaumentados	22

3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS RESIDUOS EN EL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN	22
3.2.1 Temperatura, pH y Humedad	22
3.2.2 Extraíbles, Celulosa y Lignina	23
3.2.3 Carbono orgánico y Nitrógeno.	25
2.3.4 Hidrosolubles, Acidosolubles y Sustancias Húmicas	26
3.3 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA	28
3.3.1 Caracterización de Bacterias Gramnegativas aisladas e identificadas	29
3.3.2 Bacterias grampositivas aisladas e identificadas	35
3.3.3 Hongos.	35
3.4 CALIDAD SANITARIA	38
3.5 RECUENTO DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS AL LOMBRICOMPOST	40
3.6 FERTILIZACIÓN DEL SUELO Y APLICACIÓN AGRÍCOLA	42
3.6.1 Propiedades del suelo.	42
3.6.2 Respuesta biológica de las plantas de frijol	43
3.6.3. Caracterización del suelo conformado por mezcla de tierra del suelo de la UIS y lombricompost obtenido por tratamiento de volteo con adición de microorganismos en proporción 2:1.	47
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES	51
BIBLIOGRAFÍA	52
ANEXOS	60

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Métodos para caracterización fisicoquímica de los residuos vegetales.	13
Tabla 2. Pruebas fisicoquímicas para la caracterización de los residuos vegetales en sus diferentes etapas de biodegradación,	20
Tabla 3. Datos del crecimiento de los microorganismos bioaumentados.	22
Tabla 4. Índice de humificación de la biodegradación de residuos vegetales UIS.	28
Tabla 5. Microorganismos oxigénicos aislados de biodegradación de residuos vegetales en fase termofílica.	29
Tabla 6. Especies de microorganismos oxigénicos aislados cuando el proceso de compost de los residuos vegetales vuelve a fase mesofílica.	30
Tabla 7. Especies de microorganismos oxigénicos aislados al finalizar el lombricompostaje.	31
Tabla 8. Recuento de microorganismos para evaluar calidad sanitaria.	39
Tabla 9. Recuento de microorganismos benéficos obtenidos en el lombricompost de los diferentes tratamientos.	41
Tabla 10. Registro del análisis fisicoquímico de la tierra amarilla de la UIS y Tierra:LVc (proporción 2:1).	42
Tabla 11. Valores promedio \pm desviación estándar y a posteriori según Test de Tukey para variables medidas en los frijoles en los 5 tratamientos.	45
Tabla 12. Registro del análisis físicoquímico en el compost y lombricompost para los diferentes tratamientos de Vs, Vc, As y Ac.	46

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Residuos vegetales iniciando el proceso de biodegradación	12
Figura 2. Resumen del proceso a seguir durante la investigación	14
Figura 3. Biorreactor para bioaumentación de los microorganismos	18
Figura 4. Observación macroscópica y microscópica de Hongos A. <i>Aspergillus wentii</i> B <i>Aspergillus. fumigatus</i> . C-D <i>Trichoderma sp.</i> D. <i>Penicillium expansum</i> E-F. <i>Geotrichum sp.</i>	21
Figura 5. Observación macroscópica y microscópica de Bacterias bioaumentadas. A. <i>Enterobacter aerogenes</i> . B. <i>Pseudomonas aureginosa</i> . C. <i>Lactobacillus sp.</i> D. Bacterias ácido-lácticas. E. <i>Streptomyces sp.</i>	21
Figura 6. Variación de Temperatura, pH y humedad en la biodegradación de residuos vegetales	23
Figura 7. Porcentaje de Extraíbles en alcohol benceno, alcohol y agua caliente.	24
Figura 8. Comportamiento de la Celulosa, Lignina, Carbono y Nitrógeno en la biodegradación de residuos vegetales.	25
Figura 9. Comportamiento de Hidrosolubles (%), Ácidosolubles (%) y Ácidos hímicos más fúlvicos (%AHF) en la biodegradación de residuos vegetales.	27
Figura 10. Observación macroscópica y microscópica de A. <i>Enterobacter agglomerans</i> B. <i>E. gergoviae</i> . C. <i>Citrobacter diversus</i> . D. <i>C. amalonaticus</i> . E <i>C. treundii</i> . F. <i>Kluyvera cryocrescens</i> . G. <i>Cedacea davisae</i> .	32
Figura 11. Observación macroscópica y microscópica de A. <i>Serratia liquefaciens</i> . B. <i>Serratia rubidaea</i> . C. <i>Serratia marcescens</i> .	32
Figura 12. Observación macroscópica y microscópica de <i>Acinetobacter calcoaceticus anitratus</i> .	33
Figura 13. Observación macroscópica y microscópica de <i>Pseudomonas</i> A. <i>P. pseudomallei</i> . B. <i>P. mallei</i> . C. <i>P. aeruginosa</i> . D. <i>P. cepacia</i> . E. <i>P. maltophilia</i>	33

Figura 14. Observación macroscópica de <i>Pseudomonas fluorescens</i> en Cetrimide con UV.	34
Figura 15. Observación macroscópica y microscópica de <i>Alcaligenes denitrificans</i> y <i>Achromobacter sp.</i>	35
Figura 16. Bacterias grampositivas. A. <i>Streptococcus faecalis</i> . B-C. <i>Bacillus macerans</i> .	35
Figura 17. Observación macroscópica y microscópica de A-D. <i>Rhizopus orizae</i> . E. <i>Rhizopus stolonifer</i> .	35
Figura 18. Observación macroscópica y microscópica de A-B. <i>Geotrichum sp.</i> C-D. <i>Candida Krusei</i> . E-G. <i>Candida albicans</i> . H-I. <i>Candida sp.</i>	36
Figura 19. Observación macroscópica y microscópica de <i>Aspergillus</i> . A-C. <i>A. fumigatus</i> . D. <i>A. wentii</i> . E-G. <i>A. Níger</i> . H-I. <i>A. parasiticus</i> .	36
Figura 20 Observación macroscópica y microscópica de <i>Penicillium</i> .	37
Figura 21. Observación de <i>Fusarium</i> .	37
Figura 22. Observación macroscópica de <i>Coprinus sp.</i> en compost.	38
Figura 23. Germinación y crecimiento de las plantas de fríjol.	43
Figura 24. Altura de las plantas de fríjol sembradas en los cinco tratamientos	44
Figura 25. Plantas de fríjol a los 27 días de sembradas. A. Sembradas en Tierra amarilla del suelo de la UIS. B. Sembradas en mezcla de tierra amarilla-LVc (proporción 2:1).	47

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. MEDIO DE CULTIVO PARA MICROORGANISMOS BENÉFICOS	60
ANEXO B. ANÁLISIS DE VARIANZA TIPO MLG DE DOS FACTORES (4*4) PARA LOS DATOS QUÍMICOS	62
ANEXO C. ANÁLISIS DE VARIANZA TIPO MLG DE DOS FACTORES (4*4) DEL RECuento DE MICROORGANISMOS PARA EVALUAR CALIDAD SANITARIA	63
ANEXO D. PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR (APLICANDO LOGARITMO NATURAL) Y TEST DE TUKEY PARA EVALUAR CALIDAD SANITARIA	64
ANEXO E. CORRELACIÓN (r) PARA MICROORGANISMO Y VARIABLES QUÍMICAS	65
ANEXO F. CONSIDERACIONES GENERALES DE ANÁLISIS DE SUELOS	66

LISTA DE ABREVIATURAS

- MRS: Medio recomendado para fortalecer crecimiento de lactobacilos en general
- GYM: Agar para *Streptomyces* (Actinomicetos)
- AK: Agar kanamicina-Esculina azida
- PDA: Agar papa Dextrosa
- YGC: Agar extracto de levadura, glucosa y cloranfenicol (Yeast Extract Glucose Cloranphenicol Agar)
- RVS: Caldo de enriquecimiento de Salmonella según Rappaport y Vassiliadis
- BBL-SPS: Agar recuento de Clostridium sulfito reductor
- UFC/g: Unidades formadoras de colonias por gramo
- p/v: Peso / volumen
- Bms: Base en material seca
- Vs: Tratamiento donde se aplica volteo sin adicionar microorganismos bioaumentados
- Vc: Tratamiento donde se aplica volteo con adición de microorganismos Bioaumentados
- As: Tratamiento donde se aplica aireación artificial con compresor sin adicionar microorganismos bioaumentados
- Ac: Tratamiento donde se aplica aireación artificial con compresor sin adicionar microorganismos bioaumentados
- Mm: micrómetros
- CSR: *Clostridium Sulfito Reductor*
- MF: Masa foliar (g)
- MT: Masa del tallo (g)
- MR: Masa de la raíz (g)

AR: Area Foliar (cm³)

BT: Biomasa total (g)

LVs: Lombricompost que en su tratamiento se realizó volteo sin adicionar Microorganismos

LVC: Lombricompost que en su tratamiento se realizó volteo adicionando Microorganismos

LAs: Lombricompost que en su tratamiento se realizó aireación artificial con compresor sin adicionar microorganismos

LAc: Lombricompost que en su tratamiento se realizó aireación artificial con compresor adicionando microorganismos

INTRODUCCIÓN

En la actividad agrícola los residuos sólidos generan contaminación orgánica por ser difícilmente degradables (Singh y Sharma, 2003) al presentar entremezclado de celulosa, hemicelulosas y lignina (Sanjuán, 1997). Además, el cambio hacia nuevas técnicas de cultivo, la quema de sus residuos, la utilización masiva y sistemática de abonos minerales, el empleo de herbicidas selectivos entre otros son factores que inciden negativamente en el mantenimiento de materia orgánica en el suelo.

En la Universidad Industrial de Santander (UIS) existe el problema con los residuos sólidos generados semanalmente, los cuales llegan a dos toneladas, sin contar con las seis recogidas los días de aseo general. Son llevados al Relleno Sanitario El Carrasco; pero allí establecieron estrategias de minimización, valoración y transformación de los residuos, definiendo parámetros en cuanto a características y tipo de materiales que allí se disponen, como no recibir residuos de alimentos y materiales vegetales provenientes de podas y mantenimiento de jardines, creandose la necesidad de dar alternativas para manejarlos de forma sencilla y a su vez dar un aprovechamiento global de los cultivos. Con el auge del tema de la gestión integral de residuos en Colombia, las instituciones se preguntan sobre cual es la mejor opción tecnológica y operativa para abordar el manejo de sus residuos (Gómez, 2000).

Se estan implementando tecnologías para aprovechar estos residuos como alimentación directa para animales, ensilaje como pretratamiento de preservación para alimento animal y preparación de compost con el compostaje y lombricompostaje (Orozco y Osorio, 1996; Corredor, 2002). Es importante

apoyarlos con nuevas tecnologías ya que solucionan problemas de erosión, contaminación por exceso de fertilizantes, tratamiento de residuos sólidos y principalmente aporta materia orgánica y humus para mantener y recuperar el creciente deterioro ecológico.

Con el lombricompostaje se obtienen nuevos materiales más humificados para uso agrícola, con la actividad biológica de especies de lombrices como *Eisenia foetida* y *Lumbricus rubellus*. Su humus es aprovechado en sustratos hortícolas y como fertilizante del suelo por su contenido de nutrientes y excelentes características para la liberación equilibrada de los mismos (Orozco y Osorio, 1996). Es importante su control de calidad, ya que algunas veces es comercializado como producto de características excepcionales sin tener en cuenta información sobre su fabricación, propiedades finales y uso agronómico (Beltrán, 2003). Por problemas al usar estiércol y lodos para acelerar biodegradación han desarrollado conglomerados de microorganismos, consiguiendo un producto mejorado.

En esta investigación se implementó un proceso para obtener bioabono mejorado higiénicamente sano que regenere tierras en forma natural y económica utilizando microorganismos aceleradores y lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*). Los residuos se caracterizaron fisicoquímica y microbiológicamente, se determinó la Calidad Sanitaria y se seleccionaron los microorganismos autóctonos de los residuos que contribuían a su degradación, se determinaron los tiempos de las diferentes etapas de compostaje, se determinaron las condiciones fisicoquímicas para adaptar la lombriz al sustrato y se evaluó la lombricultura productiva realizando controles fisicoquímicos, microbiológicos y de viabilidad del proceso.

Se resalta la importancia de este proyecto en la disminución del impacto ambiental negativo por la inadecuada disposición temporal o final de estos residuos generando beneficio con el lombricompost (apreciado fertilizante orgánico).

1. MARCO TEÓRICO

1.1 RESIDUOS VEGETALES

Los residuos vegetales son biodegradables, pueden ser generados por industrias de procesamiento de alimentos, actividad agrícola entre otros. Presentan lignina, celulosa y hemicelulosas, característica que los hace difícilmente accesibles al ataque microbiano (Singh y Sharma, 2003). Existen métodos físicos, químicos y biológicos para tratar estos residuos. Los tratamientos microbiológicos tienen ventaja sobre los físicos y químicos, alta especificidad en la degradación de ligninas, mínima generación de desperdicios y subproductos, bajo requerimiento de energía y no requieren eliminación ni recuperación de reactivos (Beltrán, 2003).

1.2 LOMBRICOMPOSTAJE

El humus de lombrices usadas actualmente como *Eisenia foetida*, *Lumbricus rubellus* y *Lampitom mauritii* (Tripathi and Bhardwaj, 2004) contribuyen en la fertilidad y humificación del suelo por el contenido de nutrientes y liberación equilibrada de los mismos (Orozco y Osorio, 1996; Caicedo, 2002; Gonzáles y Morales, 2002). El lombricompostaje ha ganado importancia por el alto valor económico comparado con el compostaje tradicional. Su aplicación aumenta contenido de N, P y K disponible en suelo. Como alimento provee proteína animal económica, rica en aminoácidos (lisina), vitaminas y ácidos grasos de cadena larga (ácido linoléico), su composición es independiente del tipo de residuo y de la especie animal (Orozco y Osorio, 1996).

La utilización directa de residuos vegetales puede traer efectos negativos como presencia de patógenos, poluciones orgánicas e inorgánicas o materia orgánica no

estable (Sánchez-Monedero et al., 2004), al realizar inicialmente compostaje se minimizan tales riesgos por la actividad biológica de microorganismos aumentando la temperatura, destruyendo patógenos (Vinnerås et al., 2003), descomponiendo y transformando compuestos orgánicos en sustancias húmicas estables (García-Gómez et al., 2005) y el lombricompostaje continúa biotransformando compuestos orgánicos en nuevos materiales más humificados.

Se puede diferenciar cuatro períodos atendiendo a la evolución de la temperatura; el período mesofílico, la masa vegetal está a temperatura ambiente y los microorganismos mesófilos se multiplican rápidamente, la actividad metabólica de estos microorganismos eleva la temperatura presentándose el período termofílico, donde invaden microorganismos termófilos que producen ácidos orgánicos y transforman nitrógeno en amoníaco. Desciende la temperatura apareciendo nuevamente mesófilos como bacterias esporógenas y actinomicetos que descomponen la celulosa (Emison, 2004), en este período de maduración se producen reacciones secundarias de condensación y polimerización del humus que requiere meses. La estabilidad del compost se da por el grado de descomposición de la Materia Orgánica durante el vermicompostaje (Wu et al., 2000).

Del vermicompost se puede obtener sustancias hidrosolubles, ácidosolubles y húmicas (Gómez, 2000). Los hidrosolubles son compuestos constituidos por moléculas orgánicas de bajo peso molecular (aminoácidos, azúcares, purinas, etc.) y por minerales predominando potasio. También se encuentran en poca cantidad fósforo, magnesio, cobre y trazas de otros elementos esenciales. Entre los ácidosolubles están en su orden calcio, potasio, manganeso, fósforo, magnesio y trazas de otros elementos. Tal perfil de nutrientes lo haría recomendable como fertilizante foliar en períodos de prefloración. Las sustancias húmicas (ácidos húmicos y fúlvicos) están constituidas por la fracción de humus que se puede desprender por soluciones alcalinas (Mondini et al., 2006). Los ácidos húmicos

(AH) son polisacáridos poco modificados (Howard et al., 1998) que presentan aumento de grupos fenólicos, carboxílicos y carbonilos durante el compostaje (Sánchez-Monedero et al., 2002). Los ácidos fúlvicos (AF) tienen su mayor acción sobre los minerales del suelo y plantas, por su reactividad y bajo peso molecular. Los AH tienen acción específica sobre la estructura del suelo con moléculas de mayor peso molecular que los AF. Los AF que resultan del compostaje favorecen el transporte de nutrientes y mejoran la productividad del suelo (Blanco, 1994).

Las Huminas constituyen la masa de materia orgánica evolucionada, insoluble en reactivos alcalinos, difícil de separar de la materia orgánica fresca (Mondini et al., 2006). Constituidas por AH parecidos a los anteriores pero que no son extraíbles debido a su unión muy interna con las arcillas, solamente permiten liberarlos la destrucción de los silicatos con HF. Las huminas contienen también compuestos orgánicos variados próximos a la materia orgánica fresca que han realizado uniones químicas en las arcillas: la lignina oxidada por vía biológica pertenece a esta categoría, algunos son compuestos en cadenas (poliuronidos o polisacáridos) de origen microbiano que resisten la acción de los reactivos de extracción (Carmen et al., 1996).

1.3 BIODEGRADACIÓN DE CELULOSA, OTROS POLISACÁRIDOS Y LIGNINA.

Las paredes celulares vegetales están unidas por la laminilla intermedia que consta en gran parte de pectatos de calcio y magnesio, ligan las paredes terminales de células adyacentes (Kuhad et al., 1997). La membrana primaria superpuesta directamente a esta consta principalmente de celulosa, hemicelulosa y materiales pépticos. Varias células vegetales producen solamente paredes primarias, otras depositan una membrana secundaria por el protoplasto sobre las paredes primarias cuando la célula ha alcanzado su tamaño final, paredes constituidas especialmente por celulosa, suelen estar presentes materiales no

celulósicos y generalmente los compuestos pépticos están ausentes (Cadena, 2001).

La descomposición vegetal se da principalmente por hongos que pueden digerir celulosa y lignina, como basidiomicetes de la podredumbre blanca que degradan todos los componentes de la madera (Muñoz et al., 1997), sintetizan enzimas como lacasas y peroxidasas (Datta et al., 1991; Vares et al., 1995, Guillén et al., 2000). La diversidad de enzimas puede variar la habilidad para reaccionar directamente con diferentes sustratos y mediadores (Shah y Nerud, 2002).

La celulosa es un polisacárido integrado por unidades monoméricas de glucosa no se disuelve en agua pero las absorbe en grandes cantidades (Sanjuán, 1997). Las moléculas de celulosa se ajustan perfectamente y forman largos segmentos que dan origen a puentes de hidrógeno responsables de la resistencia de los materiales celulósicos. Las microfibrillas de celulosa se ordenan en regiones cristalinas y amorfas. Las moléculas ajustadas en segmentos largos forman regiones cristalinas difíciles de penetrar por solventes u otros agentes, las regiones amorfas son fácilmente penetradas por lo que son más susceptibles a reacciones de hidrólisis, responsable en que las moléculas sean resistentes por las zonas cristalinas y flexibles debido a las zonas amorfas (Sanjuán, 1997).

Ciertos hongos y bacterias pueden degradar celulosa, entre las bacterias para enzimas celulolíticas más recientes y extensamente estudiados están las *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Corinebacterium* y entre los hongos *Aspergillus* (Shah et al., 2005), *Trichoderma*, *Phanerochaete*, *Phialophora*, *Clamidosporium* (Glazer y Nikaido, 1998). Para la degradación de la celulosa se da inicialmente hidrólisis enzimática. Algunos hongos como *Trichoderma reesei* producen tres tipos de enzimas celulolíticas que cooperan en la degradación de la celulosa: Endoglucanasas, Celobiohidrolasas y β -glucosidasas. Otros pueden degradar lignina y hemicelulosas sin la enzima

celulasa (Daniel et al., 2004). Se cree que las endoglucanasas hidrolizan las uniones internas en diversas regiones a lo largo de las fibras de celulosa. Los extremos generados así son atacados por celobiohidrolasas que aparentemente, rompen las interacciones de cadena-cadena en las regiones cristalinas de las fibras de celulosa. Finalmente, la celobiosa es hidrolizada a glucosa por β -glucosidasas.

En condiciones oxigénicas las bacterias convierten la celulosa en CO_2 y proteína celular. En los hongos los productos de la degradación son CO_2 , carbono y pequeñas cantidades de ácidos orgánicos. Los microorganismos anoxigénicos mesófilos y termófilos no son capaces de metabolizar completamente substratos simples; los productos acumulados en ausencia de oxígeno son CO_2 , H_2 , etanol, ácidos acéticos, fórmico, succínico, butírico y láctico (Corredor, 2002).

Los tejidos vegetales contienen ciertas cantidades de carbohidratos no celulósicos constituidos fundamentalmente por azúcares del tipo pentosa y hexosa que sirven de soporte a la pared celular de las plantas. Los azúcares se polimerizan entre sí y forman polisacáridos heterogéneos, los formados por las pentosas se denominan pentosanos y los de hexosa hexosanos, a estos polímeros en conjunto se les denomina hemicelulosas (Sanjuán, 1997). Son generalmente insolubles en agua, solubles en álcali y más fácilmente hidrolizables en ácido que la celulosa. Se diferencian de la celulosa en que no son fibras, se encuentran ramificados y tienen masa molecular más baja. Entre las bacterias que las degradan se encuentran *Bacillus*, *Citophaga*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* y entre los hongos *Alternaria*, *Bispora*, *Aspergillus*, *Chaetomiun*, *Fusarium*, *Chloridium*, *Glomerella*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Phoma*, *Sordarya*, *Pestalotia*.

La lignina, polímero de unidades de fenilpropano enlazadas en tres dimensiones (Taiz and Zeiger, 2006) que forma parte de láminas intermedias y paredes celulares leñosas, confiere resistencia y dureza (Kuhad et al., 1997). Su principal

función es formar la lámina media, que adhiere las fibras unas con otras. En las diferentes especies, géneros y familias de vegetales las ligninas son químicamente diferentes unas de otras, por lo tanto no pueden considerarse como una estructura uniforme (Sanjuán, 1997). Los factores que afectan su descomposición son presencia de oxígeno, temperatura y edad de los tejidos. El complejo lignocelulósico constituye la principal proporción de carbono total fijado por la fotosíntesis, parte de la celulosa, hemicelulosa y lignina producidas como productos agrícolas o subproductos forestales son utilizados el resto es considerado material residual

1.4 PROPIEDADES DEL SUELO

Las propiedades del suelo son influenciadas por la granulometría (estructura, color, consistencia, porosidad, aireación, permeabilidad, hidromorfía, retención de agua, lavado, capacidad de cambio, presencia de nutrientes) representada por la textura. Cada término estructural corresponde con una determinada composición cuantitativa de arena, limo y arcilla definidos gráficamente en un diagrama triangular que representa los valores de las tres fracciones. El Método de Bouyocos se basa en la ley de Stokes la cual relaciona la velocidad de sedimentación de las partículas de acuerdo a su tamaño (diámetro) a través de un líquido de densidad y viscosidad conocidas. Bouyocos calibró la sedimentación de la arena en 40 segundos, la del limo en dos horas y la arcilla permanece en suspensión. La arena tiene entre 0,005-2 mm de diámetro, el limo 0,002-0,005 mm de diámetro y la arcilla con diámetro menor de 0,002 mm.

Al comparar los resultados de compost y su respectivo lombricompost hay ganancia en los diferentes elementos pero especialmente en el fósforo. La deficiencia de fósforo en los suelos del trópico es un limitante en la producción de cosechas. La aplicación de abonos orgánicos permite que el fósforo orgánico entre al suelo en grandes cantidades por efecto de los residuos vegetales y en menor

grado por acción de excrementos y residuos animales. Compuestos conocidos como inositol, fosfolípidos, ácidos nucleicos y otros no tienen valor en la nutrición fosfatada de las plantas, de allí que la mineralización e inmovilización del fósforo efectuada por la actividad microbiana sea el enlace importante en el ciclo del fósforo en la naturaleza (SCCS, 1984). La mineralización del fósforo orgánico se realiza a partir de compuestos como nucleoproteínas que forman compuestos cada vez más simples (proteínas, ácidos nucleicos) y así se libera ácido fosfórico. Esta actividad microbiana se incrementa cuando la temperatura es de 30°C algo mayor y niveles de humedad del 70%. *Aspergillus*, *Bacillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Streptomyces* son encargados de intervenir en reacciones bioquímicas del fósforo del suelo porque producen hidrolasas del tipo fosfatasa, nucleotidasa y fitasa que catalizan en los procesos metabólicos.

1.5 POBLACIÓN MICROBIANA Y MACROORGANISMOS

Microorganismos descomponedores implicados en subdivisión de material orgánico son ligados a sucesión de ambientes. La fermentación es iniciada por bacterias, a éstas y a los hongos se unen actinomicetos, posteriormente miriápodos, insectos y lombrices donde cada uno hace su trabajo. Los microorganismos son los encargados de producir enzimas que degradan los residuos vegetales (Datta et al., 1991; Vares et al., 1995; Fernández et al., 2005; Novotný et al., 2005). Las bacterias, primeras en la descomposición, comienzan el proceso para su propio alimento, sin embargo, la aparición de las diferentes especies puede coincidir en el tiempo, por esto una población comienza a aparecer mientras otros se encuentran en su máximo desarrollo o ya están desapareciendo. Los actinomicetos termófilos predominan en sustratos “calientes” como compost (Ramírez y Cocha, 2003). Las bacterias mesófilas generan calor como subproducto, aumentando la temperatura en la pila, disminuyendo su número ya que se han creado condiciones apropiadas para termófilos. Las bacterias mesófilas consumen al inicio de la fermentación los

carbohidratos más fácilmente degradables y producen el aumento inicial de la temperatura, mientras que las bacterias termófilas consumen además los lípidos y hemicelulosas siendo incapaces de atacar lignina y celulosa. Los actinomicetos, activos en fase termofílica, son capaces de degradar hemicelulosa y celulosa (Ramírez y Cocha, 2003), son frecuentemente productores de antibióticos que inhiben crecimiento bacteriológico, importantes en la formación de humus, liberando carbono, nitrógeno como nitrato y amonio, transformándose en alimentos disponibles para plantas (Emison, 2004).

Los hongos, poco exigentes de requerimientos nutricionales, consumen energía degradando el material orgánico. Su gran variedad enzimática y composición rígida de la pared les ha permitido adaptarse a diversas y desfavorables condiciones, lo que explica su presencia en variados ambientes. Son iniciadores en el proceso de degradación de desechos orgánicos, participan en el mantenimiento del equilibrio biológico que permite la conservación de las especies, la fertilización del suelo, control de plagas y malezas (Beltrán, 2003).

Hay macroorganismos involucrados en transformar material orgánico en compost, son más activos en las etapas de maduración del compostaje. Las lombrices de tierra son macroorganismos importantes y mayores descomponedores por la eficiencia de su digestión (Jager, 2004). Consumen bacterias, hongos, protozoos y materia orgánica. Digieren la materia orgánica, transformándola en lombricompost. También participan hormigas e insectos que pueden traer hongos y minerales como potasio y fósforo. Otros son los milpiés y ácaros que se alimentan con levaduras de materia orgánica (Carmen et al., 1996).

2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Se recolectaron los residuos vegetales que resultaron inmediatamente de la poda de árboles, prados y jardines de la Universidad Industrial de Santander (UIS), conformados en su mayoría por *Anacardium excelsum* (Caracolí), *Couganvillea glabra* (Trinitario), *Callistemon lanceolatus* (Churrusco), *Canna sp.* (Achira), *Ceiba pentandra* (Ceiba), *Codiaeum variegatum* (Crotos), *Poa annua* (pasto piojo), *Coleus blumei* (Pompadur), *Cupressus lusitanica* (Ciprés), *Chrysolidocarpus lutescens* (Palma areca), *Eucalyptus globulus* (Eucalipto), *Galphimia glauca* (Lluvia de oro), *Terminalia catappa* (Almendro), *Psidium guajava* (Guayabo), *Persea americana* (aguacate), *Mangifera indica* (mango), *Licania tomentosa* (Oiti) entre otros. Los siguientes pasos se resumen en la figura 2.

2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se ajustó la relación Carbono/Nitrógeno (C/N). Se identificó la microbiota presente en el sustrato y se seleccionaron los microorganismos que conformaron el caldo enriquecido para determinar mejores condiciones para favorecer el desarrollo de microorganismos involucrados en el proceso de compostaje. Se analizaron dos variables independientes: aireación y enriquecimiento con microorganismos, realizando diseño factorial 2^2 estudiando dos factores, corridos a dos niveles (Montgomery, 2005), realizando 4 experimentos elementales: Volteo sin caldo enriquecido con microorganismos (Vs), Volteo con caldo enriquecido con

microorganismos (Vc), Aireación artificial sin caldo enriquecido con microorganismos (As) y Aireación artificial con caldo enriquecido con microorganismos (Ac).

Estas experiencias se realizaron a temperatura ambiente. Las variables dependientes o de respuesta a medir durante el proceso fueron pH, temperatura y crecimiento de microorganismos sobre el sustrato. La temperatura se tomó 3 veces al día en diferentes puntos del sustrato para reportar temperatura promedio diaria, medición importante para determinar los muestreos. El pH se tomó dos veces al día, de la misma forma dar pH promedio diario. La toma de muestras se hizo iniciado el proceso, al alcanzar la etapa termofílica y mesofílica de cada experimento y al final del lombricompostaje (cuatro muestreos). En ensayos preliminares se determinó la capacidad de trabajo continuo del compresor que suministró oxígeno de forma artificial a dos experimentos, además de su tiempo de carga y periodo de intermitencia.



Figura 1. Residuos vegetales iniciando el proceso de biodegradación.

2.3 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS RESIDUOS VEGETALES

2.3.1 Tamaño de partícula

Para la caracterización química de los residuos vegetales, la muestra a evaluar se pasó por molino de cuchillas para obtener menor tamaño de partícula. Este

material se tamizó en mallas tomando los que pasaron por la de 40 mesh y quedaron retenidos en la de 60 mesh (TAPPI 11 M-59). Se realizaron en el Laboratorio de Consultas Industriales y el Laboratorio de Suelos de la Universidad Industrial de Santander siguiendo las Normas Técnicas Colombianas (NTC) los análisis de Nitrógeno y físicoquímicos correspondientes a micro y macronutrientes en las diferentes etapas del compost, lombricompost, tierra de la UIS y biocompost mejorado. Los Análisis químicos de control de degradación correspondientes al seguimiento de los 4 tratamientos del compost y bioabonos mejorados fueron realizados en el CICELPA siguiendo las normas internacionales TAPPI y NTC. Estas pruebas se realizaron por triplicado (Tabla 1).

Tabla 1. Métodos para Caracterización Físicoquímica de los Residuos Vegetales (Norma TAPPI*; Cadavid et al., 1963**; Gómez, 2000***).

PARÁMETRO	MÉTODO
Humedad (%)*	T 3 m-60*
Cenizas (%bms)*	T 15 m-58*
Extraíbles en Alcohol benceno (%bms)*	T 6 m-59*
Extraíbles en Alcohol (%bms)*	T 6 m-59*
Extraíbles en Agua caliente(%bms)*	T1 m-59*
Celulosa (%bms)* (k. Seifert)*	T 17 m-55 (k.seifert)
Lignina (%bms)* (Klason)*	T 13 m-54 (Klason)
Carbono orgánico (%bms)**	Walkley-Black**
Nitrógeno(%bms)**	Kjeldahl**
Relación C/N	Matemático
pH**	Potenciométrico**
Hidrosolubles, Ácidosolubles, Huminas, Ácidos húmicos y Ácidos fúlvicos %bms)***	+Frac. químico ***

+Frac. Químico: Fraccionamiento químico (Solubilidades)

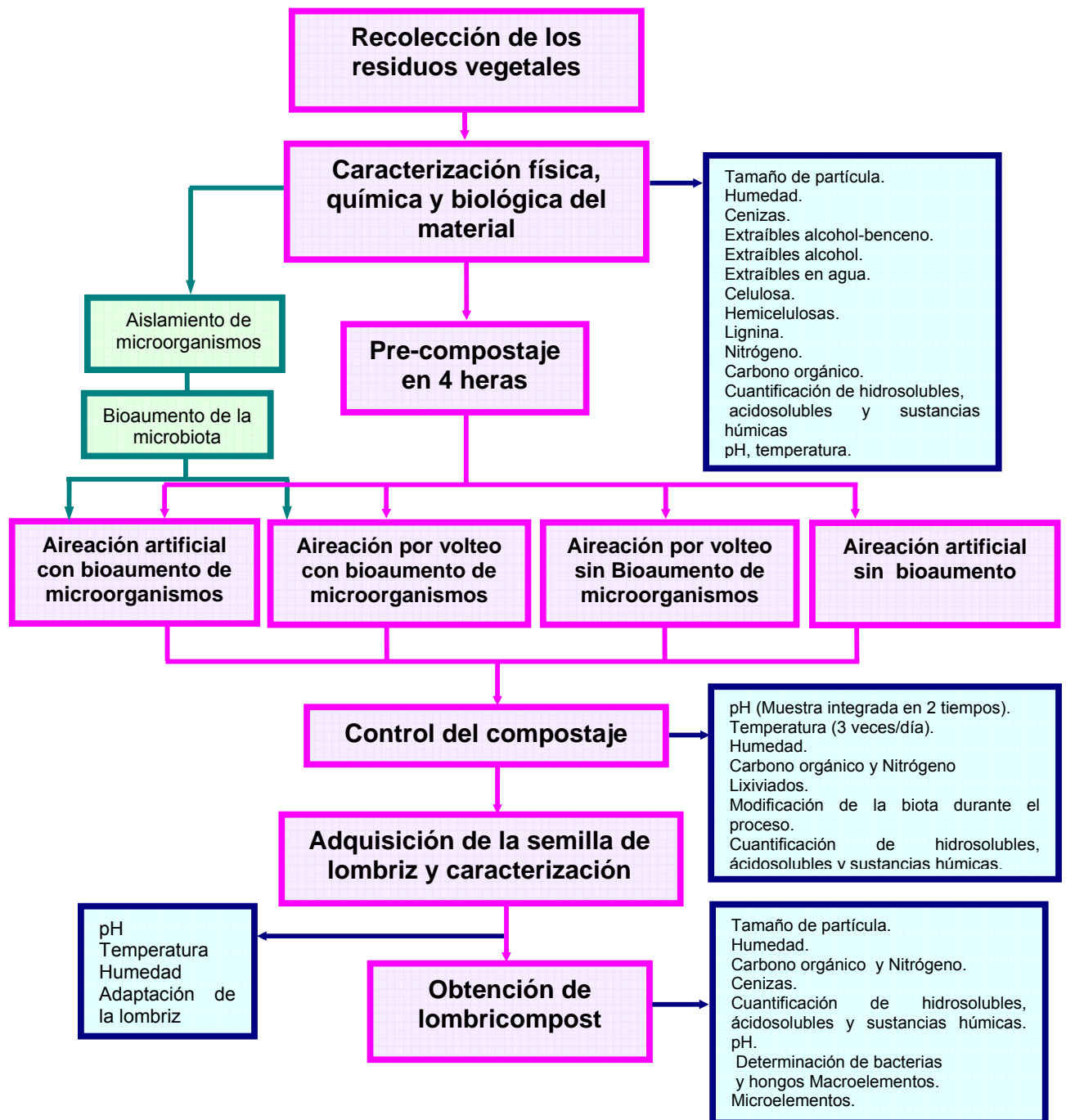


Figura 2. Resumen del proceso a seguir durante la investigación.

2.3.2 Temperatura, pH y Humedad.

Con el control de la temperatura se determinaron los tiempos de los muestreos, el primero se realizó antes de iniciar el proceso, el segundo al alcanzar la etapa termofílica (9 días), el tercero al descender la temperatura (35 días) y el último al final del lombricompostaje (75 días). El pH se midió por método potenciométrico, tomando la muestra (50g), mezclándola con agua destilada (200 mL), agitando hasta ser homogénea, dejando estabilizar una hora y tomando valores con pHmetro. El contenido de humedad se efectuó según valores de agua libre, secando la muestra a 105°C por 12 horas aproximadamente según Norma TAPPI 3m-60.

2.3.3 Extraíbles, Celulosa y Lignina

Antes de realizar extracción de lignina se trataron los residuos con alcohol-benceno, alcohol y posteriormente con agua caliente para extraer componentes como sales orgánicas, azúcares, gomas, pectinas, porciones de taninos y pigmentos, donde el agua caliente hidroliza polisacáridos e incrementa su solubilidad (Tabla 1). Posteriormente se hizo determinación de la Celulosa (K. Seifert) y de la lignina (Klason).

2.3.4 Determinación de Nitrógeno y Carbono orgánico

El nitrógeno se realizó con el Método Kjeldahl (Cadavid et al, 1963). El Carbono orgánico se determinó tomando 0.1g de muestra molida en erlenmeyer, se adicionó 10 mL de Dicromato de potasio 1N y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, se agitó y se dejó enfriar 30 minutos. Se diluyó con 200 mL de agua y 10 mL de ácido fosfórico. Posteriormente se adicionó fenilalanina (30 gotas) y se valoró el exceso de dicromato con solución ferrosa; además se preparó un blanco. Lo anterior corresponde al método colorimétrico de Walkley Black (Cadavid et al, 1963).

2.3.5 Hidrosolubles, Ácidosolubles y Sustancias Húmicas

Los hidrosolubles fueron resultado del material extraído con 10 unidades volumétricas de agua por cada unidad de peso seco, agitando en forma continua por 2 horas (Gómez, 2000). Los Ácidosolubles se obtuvieron mezclando un peso del remanente de la extracción de hidrosolubles con 10 volúmenes de una solución ácida 0,1 M (H_2SO_4 , HNO_3 o HCl) agitando por 4 días (Gómez, 2000). Las sustancias húmicas (ácidos fúlvicos, ácidos húmicos y huminas) se separaron según sus características de solubilidad. Se mezcló un peso del sólido remanente que quedó al filtrar los ácidosolubles con 10 volúmenes de álcali 0.5M ($NaOH$ o KOH) agitando por 3 ó 4 días y se filtró a los 6 días. Al filtrado se le adicionó solución ácida concentrada ($pH < 2$) y se dejó coagular y precipitar para extraer los AF (soluble) y los AH (precipitado) a los cuales se les hicieron análisis de cenizas (Gómez, 2000 y Zambrano, 2000). Por otra parte, ningún reactivo permite extraer la humina, que representa una fracción importante, a veces mayoritaria de los compuestos húmicos. Se determinó el índice de humificación (IH) para estimar calidad de materiales orgánicos, es decir, cantidad de carbono no humificado (huminas) en relación al carbono humificado (Acosta et al., 2004).

La Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) se determinó en el Laboratorio Químico de Suelos de la UIS por método turbidimétrico extrayendo con acetato de amonio. La materia orgánica debe su CIC a los grupos funcionales de las moléculas de los ácidos húmicos. Se realizó la siembra de lombrices observando su adaptación al consumo de los residuos compostados. Se seleccionó el mejor tratamiento para los residuos vegetales según características del coprolito, mayor crecimiento de las lombrices y características del lombricompost en el cultivo de fríjol. Las pruebas para caracterizar el lombricompost y la tierra a recuperar fueron Fósforo asimilable (Norma Icontec 203), Fósforo disponible (Espectrofotométrico), Calcio (%Ca), Magnesio (%Mg), Potasio (%K), Cobre (%Cu), Hierro (%Fe) y Manganeso (%Mn) por Absorción atómica NTC 5167.

2.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Se hizo caracterización microbiológica homogenizando la muestra representativa en solución peptonada estéril, se sembró en caldo de tioglicolato, Agar Kanamicina y agar MacConkey, se identificaron bacterias con tinción diferencial y pruebas bioquímicas (Madigan, 1998). Se usó el medio que fortalece crecimiento de lactobacilos (Agar MRS) y Actinomicetos (GYM para *Streptomyces*). Se sembró en Agar Extracto de Malta, Agar papa dextrosa y Agar Modificado (30% residuo vegetal licuado) para hongos y levaduras. Para la Calidad Sanitaria se hizo recuento mesófilos aerobios en Agar de recuento, Coliformes Totales y Fecales en Cromocult, mohos y levaduras en YGC, Salmonella en Caldo RVS y Clostridium sulfitorreductor en BBL-SPS Agar.

De los microorganismos aislados y caracterizados se seleccionaron los que tenían antecedentes de degradación de residuos lignocelulósicos (Beltrán, 2003) que producían enzimas degradadoras de residuos vegetales como *Aspergillus* (Batt and Solberg, 1985; Shah et al., 2005) o *Trichoderma sp.* Productor de celulasas (Mori and Abe, 1995), bacterias y actinomicetos con actividad celulolítica (Vargas et al., 2007). Para la inoculación se preparó un litro de Caldo extracto malta y otro de Caldo Nutritivo, se distribuyó en frascos de 50 mL esteriles y se sembraron los hongos y bacterias seleccionados en su respectivo medio. Posteriormente se hizo bioaumentación, utilizando biorreactores a escala de laboratorio (Figura 3). Se adicionó a cada frasco el inóculo con los microorganismos autóctonos seleccionados. La temperatura fue controlada (36°C) y la aireación constante con bombas de acuario. La biomasa se cuantificó en cámara Neubauer tomando muestra cada 24 horas. Se adicionaron a los dos montículos 10 mL del bioaumentación por cada 100 gramos bms. Para el Recuento de microorganismo benéficos del lombricompost, se preincubó muestra en solución peptonada estéril, se agitó a 150 rpm por 15 minutos, se sembró en medios de cultivo preparados (Anexo A) extendiendo con espátula de Driglaski e incubando 3 a 5 días para los respectivos recuentos.



Figura 3. Biorreactor para bioaumentación de los microorganismos

2.5 FERTILIZACIÓN DEL SUELO Y APLICACIÓN AGRÍCOLA

Se utilizó un suelo de la UIS pobre en nutrientes, aplicando los tratamientos del bioabono. Se analizó antes y después de realizar el cultivo de frijol *Phaseolus vulgaris* variedad radical para determinar aporte de nutrientes y materia orgánica siguiendo la metodología de Corredor (2002) tomándolo como control la tierra. La textura de la tierra amarilla se clasificó utilizando Hidrómetro y Técnica de Bouyoucos (León, 1995). Se realizaron 5 tratamientos para la aplicación agrícola distribuidos así:

- Tierra (control): lumbricompost (1:0)
- Tierra:lumbricompost de Vs, T:LVs (2:1).
- Tierra:lumbricompost de Vc, T:LVc (2:1).
- Tierra:lumbricompost de As, T:LAs (2:1).
- Tierra:lumbricompost de Ac, T:LAc (2:1).

Para análisis estadístico se evaluó homogeneidad de varianzas, distribución normal, ANOVA, se transformaron los recuentos de microorganismos para evaluar calidad sanitaria con logaritmo natural, las medias fueron comparadas usando test de tukey. La relación entre variables fue analizada por el coeficiente de correlación de Pearson. Todos los análisis fueron ejecutados usando el paquete estadístico SPSS versión 13.0.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO

3.1.1 Caracterización fisicoquímica de los residuos vegetales

La caracterización fisicoquímica antes de iniciar la degradación (día 0) se observa en la tabla 2 estableciéndose que los residuos cumplen con los parámetros básicos para iniciarse el compostaje.

3.1.2 Caracterización microbiológica de los residuos vegetales

Los residuos vegetales sin comportar presentaron los siguientes microorganismos:

- **Bacterias:** *Alcaligenes denitrificans*, *Achromobacter sp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter gergoviae*, *Citrobacter diversus*, *Pseudomonas aureginosa* y *Streptococcus faecalis*. *Lactobacillus sp.*, *Bacteria acidoláctica* y *E. coli*.
- **Hongos:** *Rhizopus orizae*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus wentii*, *Fusarium sp1.*, *Candida albicans*, *Geotrichum sp.* *Trichoderma sp.* y *Penicillium expansum*.

3.1.3 Aislamiento de los Microorganismos

Se seleccionaron cinco especies de hongos. *Aspergillus wentii*, hemicelulolítico, *Aspergillus fumigatus*, celulolíticos, *Trichoderma sp.*, hemicelulolítico y ligninolítico, produce extracelularmente celulasas importantes en la degradación de materia orgánica (Arzuaga et al., 1999), utilizado en varios tratamientos de degradación vegetal, usualmente crece rápido, finalizando su desarrollo presenta

Tabla 2. Pruebas fisicoquímicas para caracterizar residuos vegetales en sus etapas de biodegradación, Promedio \pm Desviación estándar. Letras en superíndices muestra los sub grupos formados según $P < 0,05$ para el test de Tukey

Trat.	Día de degradación	ExAlc-Be % en bms	ExAlcohol % en bms	ExH ₂ O % en bms	Celulosa % en bms	Lignina % en bms	Hidrosolub % en bms	Ácidosolub % en bms	Huminas % en bms	AHF % en bms
Vs	0	4,0 \pm 0,14 ^a	4,6 \pm 0,18 ^a	28,2 \pm 0,31 ^a	36,2 \pm 0,98 ^a	11,2 \pm 0,28 ^a	2,3 \pm 0,01 ^a	3,7 \pm 0,01 ^a	71,1 \pm 0,97 ^a	22,8 \pm 0,97 ^a
	8	3,3 \pm 0,26 ^{b,c}	4,0 \pm 0,08 ^b	23,5 \pm 0,12 ^b	21,0 \pm 0,19 ^b	8,9 \pm 0,26 ^{b,c}	1,7 \pm 0,07 ^b	5,6 \pm 0,11 ^{b,c}	59,8 \pm 0,72 ^{b,c}	32,9 \pm 0,71 ^{b,c,d}
	35	2,9 \pm 0,18 ^{c,d}	1,5 \pm 0,10 ^c	22,6 \pm 1,05 ^{b,c}	13,6 \pm 0,51 ^c	4,3 \pm 0,36 ^d	0,9 \pm 0,08 ^c	6,1 \pm 0,10 ^c	57,4 \pm 1,28 ^b	35,6 \pm 1,23 ^{d,e}
	75	1,4 \pm 0,06 ^e	0,8 \pm 0,01 ^d	21,6 \pm 0,92 ^{b,c,d}	2,1 \pm 0,13 ^d	1,0 \pm 0,01 ^e	0,7 \pm 0,05 ^{d,e}	7,5 \pm 0,40 ^d	53,9 \pm 1,04 ^d	38,0 \pm 0,66 ^{e,f}
Vc	0	4,0 \pm 0,14 ^a	4,6 \pm 0,18 ^a	28,2 \pm 0,31 ^a	36,2 \pm 0,98 ^a	11,2 \pm 0,28 ^a	2,3 \pm 0,01 ^a	3,7 \pm 0,01 ^a	71,1 \pm 0,97 ^a	22,8 \pm 0,97 ^a
	8	3,0 \pm 0,11 ^{c,d}	4,1 \pm 0,07 ^b	26,6 \pm 1,93 ^a	22,8 \pm 1,52 ^b	10,5 \pm 0,53 ^a	1,4 \pm 0,04 ^f	5,1 \pm 0,13 ^e	64,3 \pm 0,96 ^e	29,3 \pm 0,87 ^g
	35	2,7 \pm 0,10 ^d	1,5 \pm 0,06 ^c	21,2 \pm 0,99 ^{b,c,d,d}	14,4 \pm 0,25 ^c	5,2 \pm 0,20 ^f	0,7 \pm 0,01 ^d	5,8 \pm 0,11 ^c	53,9 \pm 0,23 ^d	39,7 \pm 0,26 ^f
	75	1,8 \pm 0,02 ^f	1,4 \pm 0,02 ^c	20,3 \pm 1,12 ^{c,d,d}	0,7 \pm 0,01 ^d	0,7 \pm 0,00 ^e	0,4 \pm 0,02 ^g	6,9 \pm 0,10 ^f	44,7 \pm 0,41 ^f	47,9 \pm 0,38 ^h
As	0	4,0 \pm 0,14 ^a	4,6 \pm 0,18 ^a	28,2 \pm 0,31 ^a	36,2 \pm 0,98 ^a	11,2 \pm 0,28 ^a	2,3 \pm 0,01 ^a	3,7 \pm 0,01 ^a	71,1 \pm 0,97 ^a	22,8 \pm 0,97 ^a
	8	3,5 \pm 0,13 ^b	4,0 \pm 0,11 ^b	26,4 \pm 1,08 ^a	22,3 \pm 1,00 ^b	9,3 \pm 0,35 ^b	1,6 \pm 0,03 ^b	4,6 \pm 0,20 ^g	63,8 \pm 0,82 ^e	30,1 \pm 1,00 ^{b,g}
	35	3,4 \pm 0,11 ^b	2,4 \pm 0,15 ^e	22,3 \pm 0,99 ^{b,c}	14,8 \pm 0,36 ^c	4,4 \pm 0,10 ^d	1,2 \pm 0,01 ^h	5,3 \pm 0,22 ^{b,e}	59,1 \pm 1,08 ^{b,c}	34,4 \pm 0,86 ^{c,d}
	75	1,8 \pm 0,08 ^f	2,0 \pm 0,07 ^f	19,6 \pm 0,78 ^{d,d}	0,7 \pm 0,02 ^d	0,5 \pm 0,01 ^e	0,8 \pm 0,03 ^{c,e,i}	8,4 \pm 0,15 ^h	47,7 \pm 1,96 ^f	43,1 \pm 2,05 ⁱ
Ac	0	4,0 \pm 0,14 ^a	4,6 \pm 0,18 ^a	28,2 \pm 0,31 ^a	36,2 \pm 0,98 ^a	11,2 \pm 0,28 ^a	2,3 \pm 0,01 ^a	3,7 \pm 0,01 ^a	71,1 \pm 0,97 ^a	22,8 \pm 0,97 ^a
	8	3,4 \pm 0,07 ^b	4,2 \pm 0,09 ^{a,b}	23,6 \pm 0,72 ^b	20,7 \pm 0,87 ^b	8,1 \pm 0,21 ^c	2,1 \pm 0,05 ^{c,k}	4,2 \pm 0,15 ^{a,g}	64,4 \pm 2,03 ^e	29,3 \pm 0,94 ^g
	35	2,6 \pm 0,05 ^d	1,6 \pm 0,06 ^c	21,7 \pm 0,78 ^{b,c,d}	12,6 \pm 0,61 ^c	3,4 \pm 0,10 ^g	0,9 \pm 0,04 ^{e,i}	5,8 \pm 0,09 ^c	61,6 \pm 1,25 ^{c,e}	31,7 \pm 1,19 ^{b,c,g}
	75	1,8 \pm 0,04 ^{e,f}	1,4 \pm 0,02 ^c	18,8 \pm 0,77 ^{d,d}	0,8 \pm 0,03 ^d	0,4 \pm 0,01 ^e	0,8 \pm 0,03 ^{d,e,i}	7,3 \pm 0,21 ^{d,f}	53,4 \pm 0,89 ^d	38,5 \pm 0,67 ^{e,f}

bms = base en muestra seca

macroscópicamente coloración verde brillante, microscópicamente micelios y Conidioforos septados multiramificados que terminan en un estigma que desprende conidios verdes brillantes esféricos o ligeramente ovales. *Penicillium expansum* que degrada hemicelulosas y *Geotrichum sp.* celulolítico (Figura 4).

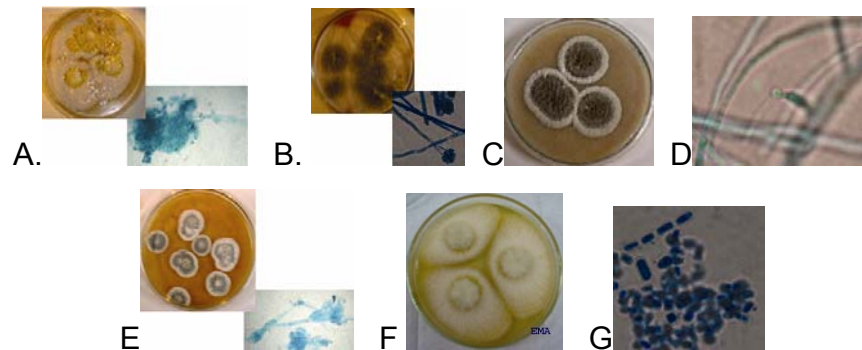


Figura 4. Observación macroscópica y microscópica de **A.** *Aspergillus wentii*. **B** *A. fumigatus*. **C-D** *Trichoderma sp.* **D.** *Penicillium expansum* **E-F.** *Geotrichum sp.*

De las bacterias gramnegativas, *Enterobacter aerogenes*, proteolítica, con colonias elevadas opacas, crecimiento más viscoso y cápsulas pequeñas; *Pseudomonas aureginosa*, proteolítica y ligninolítica con pigmentos solubles verdeazules, fluorescentes y olor dulzón. De las bacterias grampositivas *Lactobacillus sp.* quimiorganótrofa celulolítica aerobia con colonias grandes, planas, bordes irregulares y flagelos típicamente laterales; Bacterias acidolácticas y actinomicetos *Streptomyces sp.* celulolítico (Figura 5).

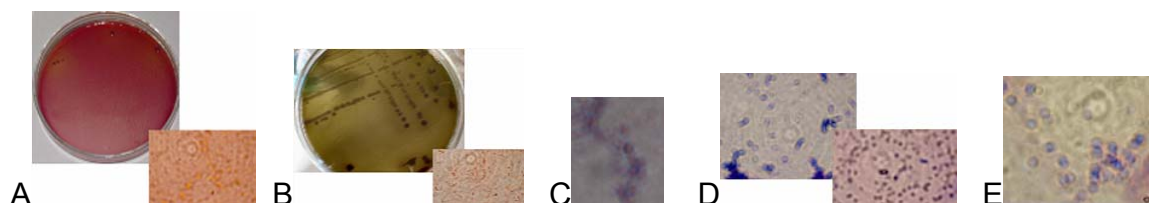


Figura 5. Observación macroscópica y microscópica de Bacterias bioaumentadas. **A.** *Enterobacter aerogenes*. **B.** *Pseudomonas aureginosa*. **C.** *Lactobacillus sp.* **D.** Bacterias ácido-lácticas. **E.** *Streptomyces sp.*

3.1.4 Curva de crecimiento del grupo de microorganismos bioaumentado

Con la curva de crecimiento se determinó que agitando constantemente el medio a 37°C hay mayor crecimiento en la fase logarítmica. Se tomó el inóculo a las 120 horas con concentración de $2 \cdot 10^6$ células/mL (Tabla 3).

Tabla 3. Datos del crecimiento de los microorganismos bioaumentados

Tiempo (horas)	0	24	48	72	96	120	144	168
Células/ml	$13 \cdot 10^3$	$78 \cdot 10^3$	$14 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5$	$3,2 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^6$	$201 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^6$

3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS RESIDUOS EN EL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN

La caracterización físicoquímica de los residuos vegetales en sus etapas presentaron diferencias significativas (Anexo B). Los promedios \pm desviación estándar y subgrupos formados según $P < 0,05$ para el test de Tukey se presentan en la tabla 2.

3.2.1 Temperatura, pH y Humedad

La temperatura inicial de los residuos fue de 37.5°C, a partir del séptimo día se presenta incremento, 39°C para As, 40°C para Ac, 53°C para Vs y 56°C para Vc, niveles selectivos a favor de microorganismos termófilos que impiden crecimiento de patógenos y parásitos (Campos y Lugo, 1998), destruyéndose la mayoría con temperatura cercana a 55°C y alrededor de 60 minutos de exposición. El lombricompost presentó temperatura de 24°C (Figura 6). La temperatura para los residuos aireados artificialmente fue en mayoría de casos menor comparada con los de volteo, por tanto a los dos tratamientos de aireación artificial no se les da garantía de ausencia de patógenos al final del proceso.

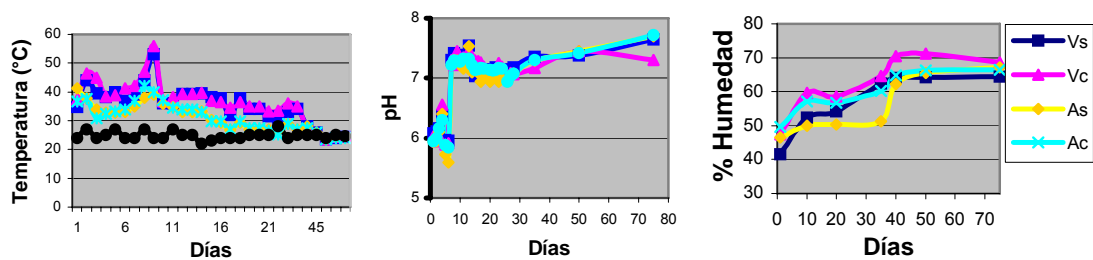


Figura 6. Variación de Temperatura, pH y humedad en la biodegradación de residuos vegetales

El pH durante el proceso fue similar en cada experimento, inició cercano a seis, al quinto día disminuyó posiblemente porque algunas bacterias generan enzimas hidrolíticas formadoras de ácidos y sube al sexto día (Figura 6). En tratamientos de Volteo se mantuvo superior a 7.0, en los de Aireación se registran puntos menores. Al final del proceso el lombricompost presentó un pH entre 6.5 a 8.0, rango que debe cumplir un compost maduro según normas establecidas (Lugo y Gitscher, 1998). La humedad, controlada adicionando agua y/o inóculo, en el compostaje permaneció entre un 50 y 60% aumentando durante el lombricompostaje a intervalos entre 60 a 72% (Figura 6).

3.2.2 Extraíbles, Celulosa y Lignina

En cada tratamiento se presentó reducción de extraíbles en la medida que avanzó la degradación (Figura 7), como la reportada por Lechner y Papinutti, 2006. Aquí con alcohol benceno fue similar a los 8 días de biodegradación en todos los tratamientos. A los 35 días fue similar en Vs, Vc y Ac y menor en As. A los 75 días tiende lentamente a igualar Vs, resultado similar en los extraíbles en alcohol. Los resultados de extraíbles en agua mostraron que a los 8 días hubo mayor reducción en Vs y Ac; a los 35 y 75 días la reducción bajo todas las condiciones probadas no tubo diferencias significativas, concluyendo que la perdida de sales orgánicas,

azúcares simples entre otros se ha estabilizado un 1% por debajo en los procesos donde se adicionó microorganismos (Tabla 2).

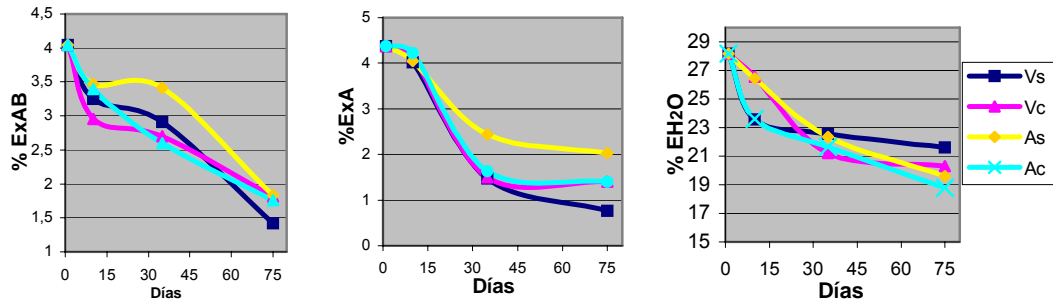


Figura 7. Porcentajes de Extraíbles en Alcohol Benceno (ExAB), en Alcohol (ExA) y en Agua Caliente (ExH₂O) en de la biodegradación de residuos vegetales

La reducción de celulosa en todos los tratamientos no presentó diferencias significativas (Anexo B, Tabla 2), concluyendo que la aireación y los microorganismos bioaumentados no aceleran la biodegradación de celulosa en los residuos vegetales. Esta lisis de la celulosa es sensible a la riqueza de nitrógeno y carbono en el medio por la actividad de bacterias y de ciertos hongos, principalmente basidiomicetes, perdiéndose gran parte del carbono en forma de CO₂ y el resto se convierte en carbono celular.

La reducción de lignina si presentó diferencias significativas en algunos tratamientos (Figura 8, anexo B). A los 8 días (fase termofílica) la reducción fue significativamente similar en Vs-As y Vs-Ac y menor en Vc (Tabla 2). A los 35 días hubo significativamente menos pérdida en Vc (5.2 ± 0.20), en Ac se dio mayor pérdida (3.4 ± 0.10). A los 75 días la pérdida de lignina fue significativamente similar en los tratamientos, concluyendo que en estados tempranos de degradación la aireación artificial redujo los porcentajes de lignina en los residuos vegetales (probado por Fernandes et al., 2005); los tratamientos probados para degradación por lombrices tienen poca influencia en la reducción de lignina. En la primera fase mesofílica y en la termofílica es más lenta la pérdida de ligninas debido a que

intervienen microorganismos que degradan compuestos de fácil descomposición, incluso antes de degradar celulosa pueden degradar hemicelulosas tomándolas como energía fundamental y fuente de carbono (Chi et al., 2007).

Biodegradación es debida especialmente a hongos como *Coprinus* sp. con altos niveles de lacasas y peroxidasas que degradan lignina (Kim and T. Choi, 1995; Heinzkill et al., 1998; Shah and Nerud, 2002; Arantes and Ferreira, 2007), *Geotrichum* sp., *Penicillium expansum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus* (Batt and Solberg, 1985; Shah et al., 2005) y *Trichoderma* sp. que produce celulasas (Mori and Abe, 1995), bacterias y actinomicetos que presentan actividad celulolítica (Vargas et al., 2007); bacterias celulolíticas y ligninolíticas del género *Enterobacter* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las lombrices lograron degradar completamente éstas macromoléculas de difícil penetración.

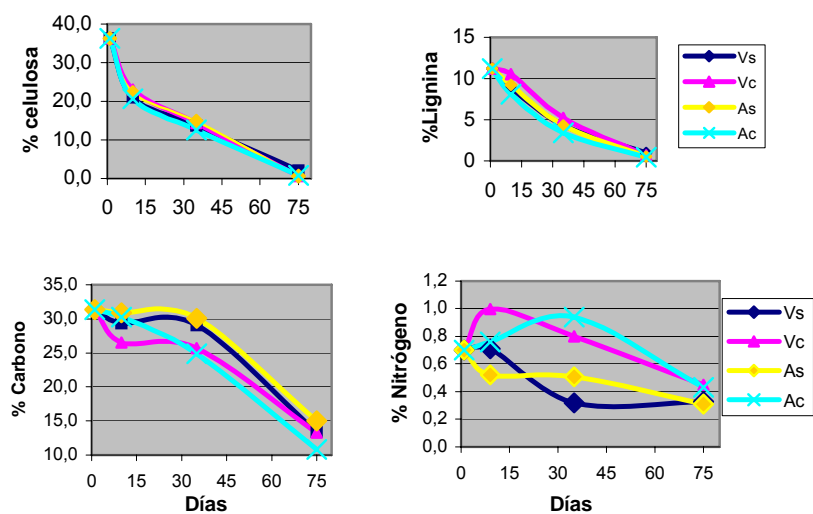


Figura 8. Comportamiento de Celulosa, Lignina, Carbono y Nitrógeno en la biodegradación de residuos vegetales

3.2.3 Carbono orgánico y Nitrógeno.

A los 8 días hay mayor disminución del carbono orgánico para el experimento de Vc ya que estos utilizan sustancias fácilmente degradables como azúcares y

almidones. A los 35 días disminuye la velocidad ya que se empieza a degradar la celulosa cristalina y lignina, macromoléculas que son más resistentes al ataque de microorganismos (Beltrán, 2003). El contenido de carbono disminuye considerablemente después del lombricompostaje por su transformación a CO_2 . Este contenido de Carbono se encuentra entre los niveles considerados para un compost maduro. El nitrógeno presente inicialmente en el material vegetal que se encontraba haciendo parte de las estructuras de aminoácidos y proteínas por acción de microorganismos es transformado a las formas inorgánicas amoniacal (NH_4^+), nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-) y dado que el pH cercano a 7,0 o superior influye favorablemente en la tasa de nitrificación, es susceptible a transformación por acción de microorganismos (Pinto, 2004) y en primeros días supone pérdidas considerables tendiendo a estabilizarse (León, 1995). A partir del día 11, cuando la temperatura alcanza valores inferiores a 35°C se pierde el amoníaco hacia el ambiente (Figura 8).

Con lo anterior se considera que los tratamientos a los que se les adicionaron los microorganismos en el tercer muestreo presentan contenido de nitrógeno recomendado para compost maduro porque su porcentaje está entre 0,8 a 1,5% (Lugo y Gitscher, 1998).

2.3.4 Hidrosolubles, Acidosolubles y Sustancias Húmicas

Los hidrosolubles presentes en el material vegetal inicial fueron rápidamente degradados (Figura 9) favoreciendo el desarrollo de los microorganismos (Zambrano, 2000), indicando que las sustancias de más bajo peso molecular se van perdiendo; a los 8 días en Vc se obtuvo menos porcentaje de hidrosolubles, Vs y As similares y Ac con mayor porcentaje, es decir, menos biodegradación. A los 35 días la secuencia del menos biodegradado al más biodegradado fue $\text{As} < \text{Ac} < \text{Vs} < \text{Vc}$. A los 75 días se presentaron resultados similares en As, Ac y Vs,

en Vc hubo mayor reducción ($0.4 \pm 0.02\%$ bms). Los ácidosolubles con el tiempo fueron aumentando, en 8 días As y Ac fueron similares y menores respecto a los otros dos tratamientos, Vs fue el mayor. En 35 días fueron similares Vs-Vc-Ac. En 75 días similares Vs-Ac y Ac-Vc, el mayor porcentaje se dio en As ($8.4 \pm 0.15\%$ bms). Considerando los hidrosolubles y ácidosolubles As difiere significativamente de los otros experimentos presentando menor degradación (Tabla 2).

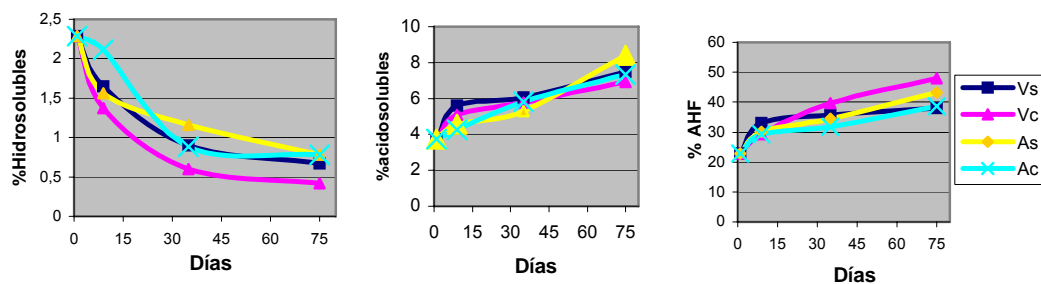


Figura 9. Comportamiento de Hidrosolubles (%bms), Ácidosolubles (%bms) y Ácidos húmicos más fúlvicos (%AHF) en la biodegradación de residuos vegetales.

Las huminas se redujeron significativamente en los diferentes tratamientos (Anexo B). A los 8 días Vc, As y Ac tuvieron reducción similar, Vs con menor porcentaje. A los 35 días fueron similares entre Vs-As y As-Ac; Vc con menor porcentaje luego fue considerado el tratamiento que más redujo su contenido. A los 75 días las lombrices lograron reducir más, siendo similares Vc-As y Vs-Ac, los primeros con menor porcentaje, es decir los más biodegradados (Tabla 2). Luego los tratamientos evaluados influyen la biodegradación de huminas, especialmente en la maduración con mejor reducción adicionando los hongos y bacterias bioaumentados y aireando por volteo lo que intervino positivamente facilitando la posterior actividad de las lombrices.

La producción de ácidos húmicos más fúlvicos (AHF) fue significativamente diferente en los tratamientos (Figura 9, Anexo B) lo que evidenció degradación a través de los complejos estructurales de los materiales lignocelulolíticos. A los 8

días hubo aumento similar y menor en Vc y Ac, a los 35 días se produjeron más AHF, producción menor en Ac, similar en Vs-As y mayor en Vc ($39.7 \pm 0.26\%$ bms). A los 75 días fue similar y menor en Vs y Ac, superior en Vc con $47.9 \pm 0.38\%$ bms (Tabla 2). Con estos resultados se concluyó que la sumatoria de los hidrosolubles, ácidosolubles y AHF al término del compostaje y del lombricompostaje se ve favorecida para el tratamiento con adición de microorganismos y aireación por volteo (Vc). Confirma la síntesis de nuevas sustancias húmicas como lo propusieron Mondini et al., 2006, donde el alto contenido de lignina en los materiales iniciales a degradar favorece producción de compost de altas cualidades con un alto contenido de AHF.

Tabla 4. Índice de humificación de la biodegradación de residuos vegetales UIS

Días de degradación	Vs	Vc	As	Ac
0	3,1	3,1	3,1	3,1
8	1,8	2,2	2,1	2,2
35	1,6	1,4	1,7	1,9
75	1,4	0,9	1,1	1,4

El incremento de AHF también se puede ver por la evolución del índices de humificación (IH) de los residuos vegetales en biodegradación (Tabla 4), mostrando que Vc obtuvo el más bajo IH después de ser degradado por las lombrices, indicando que presenta menos huminas en relación a AHF. Con esto se apoya la sugerencia de volteo por Cayuela et al., 2004.

3.3 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA

Los residuos vegetales en degradación tenían bacterias, levaduras, hongos filamentosos y levaduriformes. En la tabla 5 están los aislados en fase termofílica. Cuando el proceso vuelve a fase mesofílica (se enfría y madura) y después del lombricompost los microorganismos presentes se listan en las tablas 6 y 7.

Tabla 5. Microorganismos aislados de biodegradación en fase termofílica.

Microorganismos	Tratamientos			
	Vs	Vc	As	Ac
Bacterias	• <i>Alcaligenes denitrificans</i>	• <i>Alcaligenes denitrificans</i>	• <i>Alcaligenes denitrificans</i>	• <i>Alcaligenes denitrificans</i>
	• <i>Citrobacter amalonaticus</i>	• <i>Citrobacter treundii</i>	• <i>Citrobacter diversus</i>	• <i>Serratia rubidae</i>
	• <i>P. pseudomallei</i>	• <i>P. aeruginosa</i>	• <i>P. cepacia</i>	• <i>Citrobacter amalonaticus</i>
	• <i>Serratia liquefaciens</i>	• <i>Enterobacter agglomerans</i>	• <i>P. mallei</i>	• <i>Enterobacter agglomerans</i>
	• <i>Cedacea davisae</i>		• <i>Enterobacter gergoviae</i>	• <i>Kluyvera cryoscrescens</i>
			• <i>Bacillus macerans</i>	• <i>Bacillus macerans</i>
		• <i>A. fumigatus</i>	• <i>A. fumigatus</i>	• <i>A. fumigatus</i>
		• <i>A. parasiticus</i>	• <i>Penicillium expansum</i>	• <i>A. parasiticus</i>
		• <i>Fusarium sp.</i>	• <i>Rhizopus stolonifer</i>	• <i>Rzopus stolonifer</i>
		• <i>Candida krusei</i>	• <i>Rhizopus stolonifer</i>	
	• <i>Candida sp.</i>			
	• <i>Penicillium sp.</i>			

Vs : Volteo sin Microorganismos

Vc : Volteo con microorganismos

As : Aireación sin microorganismos

Ac : Aireación con microorganismos

A=*Aspergillus* P=*Pseudomonas*

3.3.1 Caracterización de Bacterias Aerobias Gramnegativas Aisladas

En este grupo se encuentran las bacterias entéricas. Fenotípicamente son bacilos gramnegativos no esporulados, inmóviles o móviles por flagelación peritrica, aerobios facultativos, oxidasa negativo, con escasos requerimientos nutricionales, fermentadores de azúcares con diferentes productos finales.

Tabla 6. Especies de microorganismos oxigénicos aislados cuando los residuos vegetales en biodegradación vuelven a fase mesofílica (enfriamiento-maduración).

Microor- ganismos	Tratamientos			
	Vs	Vc	As	Ac
Bacterias	• <i>Kluyvera cryoscrescens</i>	• <i>Enterobacter agglomerans</i>	• <i>Enterobacter agglomerans</i>	• <i>E. gergoviae</i>
	• <i>Alcaligenes denitrificans</i>	• <i>Kluyvera cryoscrescens</i>	• <i>Pseudomonas cepacia</i>	• <i>Enterobacter agglomerans</i>
		• <i>Acinetobacter calcoaceticus anitratus</i>	• <i>Bacillus macerans</i>	• <i>Alcaligenes denitrificans</i>
				• <i>Bacillus macerans</i>
Hongos	• <i>A. fumigatus</i>	• <i>A. fumigatus</i>	• <i>A. fumigatus</i>	• <i>A. fumigatus</i>
	• <i>A. parasiticus</i>	• <i>A. parasiticus</i>	• <i>A. parasiticus</i>	• <i>A. niger,</i>
	• <i>A. wentii</i>	• <i>Penicillium expansum</i>	• <i>Geotrichum sp.</i>	• <i>A. clavatus</i>
	• <i>Fusarium sp.</i>	• <i>Penicillium brevicompartum</i>	• <i>Coprinus sp.</i>	• <i>A. parasiticus</i>
	• <i>Penicillium expansum</i>	• <i>Penicillium corylophilum</i>		• <i>Penicillium expansum</i>
	• <i>Geotrichum sp.</i>	• <i>Penicillium corylophilum</i>		• <i>Fusarium sp2.</i>
	• <i>Candida krusey</i>	• <i>Rhizopus stolonifer</i>		• <i>Rhizopus stolonifer</i>
	• <i>Coprinus sp.</i>	• <i>Rhizopus stolonifer</i>		• <i>Rhizopus orizae</i>
		• <i>Candida albicans.</i>		• <i>Geotrichum sp.</i>
		• <i>Fusarium sp.</i>		• <i>Coprinus sp.</i>
	• <i>Coprinus sp.</i>			

Vs : Volteo sin Microorganismos

Vc : Volteo con microorganismos

As : Aireación sin microorganismos

Ac : Aireación con microorganismos

A: *Aspergillus*

Tabla 7. Especies de microorganismos oxigénicos aislados al finalizar el lombricompostaje.

Microor- ganismos	ESPECIES			
	Vs	Vc	As	Ac
Bacterias	• <i>Pseudomonas maltophilia</i>	• <i>Pseudomonas maltophilia</i>	• <i>Enterobacter agglomerans</i>	• <i>Enterobacter agglomerans</i>
	• <i>Pseudomonas fluorescens</i>	• <i>P. fluorescens</i> • <i>Ewingella americana</i>		• <i>Pseudomonas fluorescens</i>
	• <i>Alcaligenes denitrificans</i>	• <i>Serratia marcescens</i>		• <i>Serratia marcescens</i>
Hongos	• <i>Alcaligenes denitrificans</i>	• <i>Fusarium macroconidia</i>	• <i>Aspergillus fumigatus</i>	• <i>Aspergillus fumigatus</i>
	• <i>Fusarium verticillioides</i>	• <i>Fusarium sp2.</i> • <i>Aspergillus fumigatus</i>	• <i>Fusarium sp3.</i>	• <i>Chrysonilia sitophila</i>
	• <i>Fusarium sp.</i>			• <i>Fusarium sp2.</i>
	• <i>Rhizopus orizae</i>	• <i>Penicillium expansum</i>		• <i>Penicillium echinulatum</i>
	• <i>Penicillium echinulatum</i>	• <i>Alcaligenes denitrificans</i>		• <i>Penicillium expansum</i>
	• <i>Fusarium sp2</i>	• <i>Penicillium griseofulvum</i>		
	• <i>Candida krusey</i>			

• **Familia: Enterobacteriaceae (Enterobacterias).**

Caracterizadas por ser bacilos gramnegativos con o sin movilidad, oxidasa negativos que fermentan azúcares. Patógenos en bajo grado para hombre, animales y plantas, pero con gran utilidad biotecnológica al producir sustancias de interés industrial. De esta familia se aislaron *Enterobacter aerogenes* (bioaumentado, figura 5), *Enterobacter agglomerans* y *Enterobacter gergoviae*.

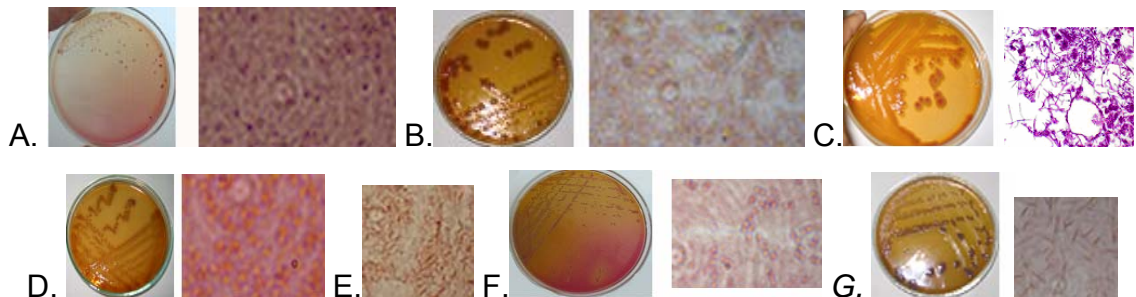


Figura 10. Observación macroscópica y microscópica de **A.** *Enterobacter agglomerans*, **B.** *E. gergoviae*. **C.** *Citrobacter diversus*. **D.** *C. amalonaticus*. **E.** *C. treundii*. **F.** *Kluyvera cryocrescens*. **G.** *Cedacea davisae*.

Citrobacter son bacterias positivas al citrato y difieren de las *Salmonellas* en que no descarboxilan la lisina. Fermentan la lactosa con mucha lentitud en el mejor de los casos. De este género se identificaron *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticu* y *Citrobacter treundi*. También se aisló *Kluyvera cryocrescens* y *Cedacea davisae* (Figura 10). Del género *Serratia* que produce DNasa, lipasa, gelatinasa y la reacción de Voges Proskauer positiva se aislaron *Serratia liquefaciens*, *Serratia rubidaea* y *Serratia marcescens* (figura 11).



Figura 11. Observación macroscópica y Microscópica de **A.** *Serratia liquefaciens*. **B.** *Serratia rubidaea*. **C.** *Serratia marcescens*

- **Familia Moraxellaceae**

De esta familia se aislaron *Acinetobacter calcoaceticus anitratusque*, bacterias gramnegativas o gram variable, distribuidas con amplitud en el suelo, agua, en ocasiones se cultiva de piel, mucosa y secreciones. Presentan aspecto cocobacilar o cocal. Se encuentran también formas en bastoncillo.

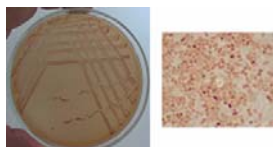


Figura 12. Observación macro y microscópica de *Acinetobacter calcoaceticus anitratus*.

- **Familia Pseudomonadaceae**

Bastoncillos aerobios móviles, algunos producen pigmentos solubles en agua, son heterotrófas, sin metabolismo fermentativo, no forman gas a partir de la glucosa y la oxidasa es positiva. Poseen flagelos polares, Indol, Rojo de Metilo y Voges-Proskauer negativos. Crecen sobre compuestos orgánicos que carezcan de enlaces C-C, lo que permite su explotación a nivel industrial, proceso llamado Metilitrofia II. Las bacterias metano-oxidantes facultativas tienen la capacidad de fijar N₂ en forma no simbiótica. Usan gran variedad de compuestos orgánicos como fuente de carbono y como donadores de electrones para producir energía. Microscópicamente con colonias grandes, lisas, bordes gruesos, aspecto mucoso, microscópicamente bacilos rectos o curvos con tamaño entre 0.5-1.0 μm por 1.5-4.0 μm, sin esporas móviles (Badillo y González, 1998).

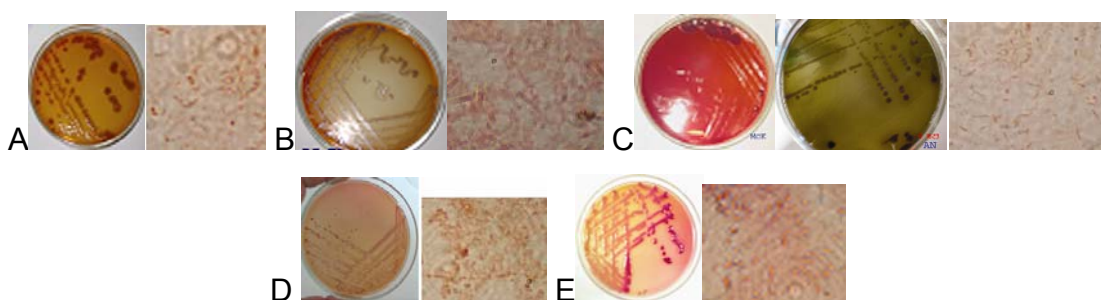


Figura 13. Observación macroscópica y microscópica de *Pseudomonas*
A. *P. pseudomallei*. **B.** *P. mallei*. **C.** *P. aeruginosa*. **D.** *P. cepacia*. **E.** *P. maltophilia*

Se aislaron 6 especies diferentes (Figura 13 y 14). *Pseudomonas pseudomallei*, parecida a otras pseudomonas no pigmentadas, se encuentran en el suelo,

plantas y agua, pueden producir infecciones en roedores y otros animales. *Pseudomonas mallei*, *Pseudomonas aeruginosa* se encuentra de manera aislada en parejas y ocasionalmente en cadenas cortas, en ocasiones produce olor dulzón o de uvas y forma colonias redondas lisas con color verdoso fluorescente. Con frecuencia produce pigmento azuloso no fluorescente piocianina que se difunde en agar. Muchas cepas elaboran el pigmento fluorescente pioverdina, que imparte un color verdoso al agar, no fermenta carbohidratos pero muchas cepas oxidan glucosa. Crece bien entre 37 a 42 °C, a 42 grados centígrados ayuda a diferenciarla de otras especies de *Pseudomonas* confirmando su presencia en fase termofílica. *P. cepacia*, *P. maltophilia* y *P. fluorescens* aislada a los 75 días en Vs, Vc y Ac (Figuras 13 y 14).

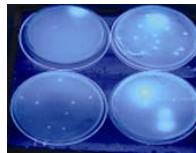


Figura 14. Observación macroscópica de *P. fluorescens* en Cetrimide con UV

- **Familia Alcaligenaceae**

Alcaligenes denitrificans, con flagelos peritricosos, móviles lo que los distingue de *Pseudomonas*, alcalinizan citrato, negativos a ureasa, crece en sustratos orgánicos y CO₂. *Achromobacter sp.* no fermentadores, parte de las bacterias del suelo, considerados carboxibacterias, oxidantes del CH₄, arsenito a arsenato y oxidación aeróbica del CO a CO₂ y en su eliminación subsiguiente del sistema (Grant y Long, 1989). Positivos a oxidasa, aislados del material vegetal sin degradar.



Figura 15. Observación macroscópica y microscópica de **A.** *Alcaligenes denitrificans* **B.** *Achromobacter sp.*

3.3.2 Bacterias Grampositivas aisladas e identificadas

De la familia Bacillaceae se aisló *Bacillus macerans* con capacidad de producir altos niveles de celulasas y peptinasas (Shigemitsu, 2000) y de fijar nitrógeno; de la familia Micrococcaceae se aisló *Streptococcus faecalis* (Figura 16).

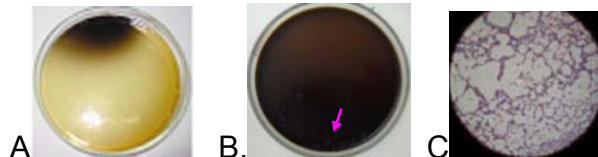


Figura 16. Bacterias grampositivas **A.** Observación macro de *Streptococcus faecalis*. **B-C.** Observación macromicroscópica de *Bacillus macerans*

3.3.3 Hongos.

- **Familia: Mucoraceae**

Se aislaron *Rhizopus orizae* y *Rhizopus stolonifer* (Figura 17). En mayoría terrestres, lesionan plantas o animales, por tanto se aislaron con facilidad.

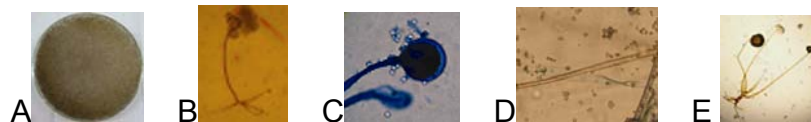


Figura 17. Observación macroscópica y microscópica de **A-D.** *Rhizopus orizae*. **E.** *Rhizopus stolonifer*

- **Familia Moniliaceae**

Degradadoras de sustratos ligninolíticos detectando algunas enzimas (Staszczak, 2007), producen excelente biomasa, elaboran productos de interés industrial. Presentan células ovales pequeñas (Curtis y Barnes, 2000). De esta familia se aislaron *Geotrichum sp.* De *Candida*, con pseudomicelios se aislaron *C. krusei*, *C. albicans*, fermentadora de glucosa, maltosa, producen ácido y gas, no ataca lactosa, forma tubos germinales en 2 o 3 horas; y *Candida sp* (Figura 18).

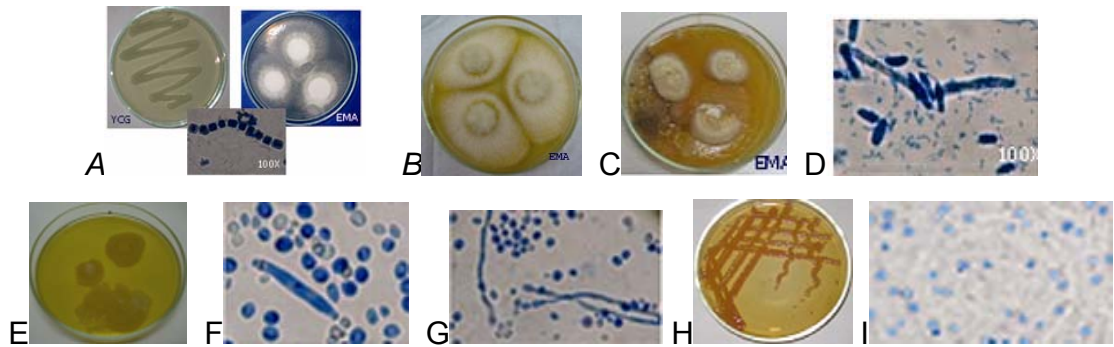


Figura 18. Observación macroscópica y microscópica de **A-B.***Geotrichum sp.*
C-D. *Candida Krusei.* **E-G.** *Candida albicans.* **H-I.** *Candida sp.*

- **Genero Aspergillus**

Produce micotoxinas (Curtis y Barnes, 2000) que deterioran cualquier sustrato terminado o en almacenamiento, producen durante su metabolismo secundario Lignina peroxidasa que degrada lignina (Shah et al., 2005). Se aislaron e identificaron *Aspergillus fumigatus*, *A. wentii* y *A. parasiticus* (Figura 19).

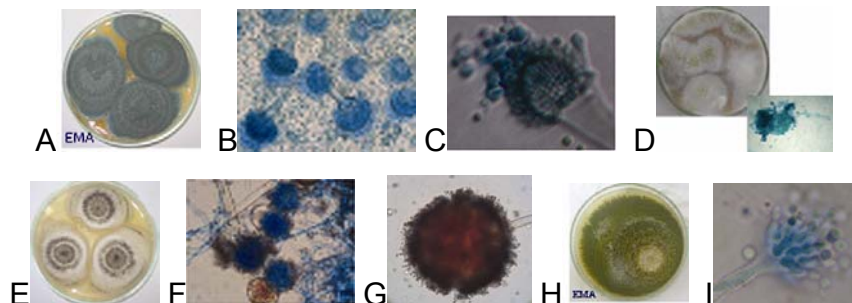


Figura 19. Observación macroscópica y microscópica de *Aspergillus* **A-C.** *A. fumigatus* **D.** *A. wentii* **E-G.** *A. Níger.* **H-I.** *A. parasiticus.*

- **Genero Penicillium**

Se encuentra con frecuencia, presenta micotoxinas, algunas extracelulares. Deterioran cualquier sustrato. Se aislaron *Penicillium expansum*, *Penicillium brevicompartum*, *Penicillium corylophilum* (Figura 20).

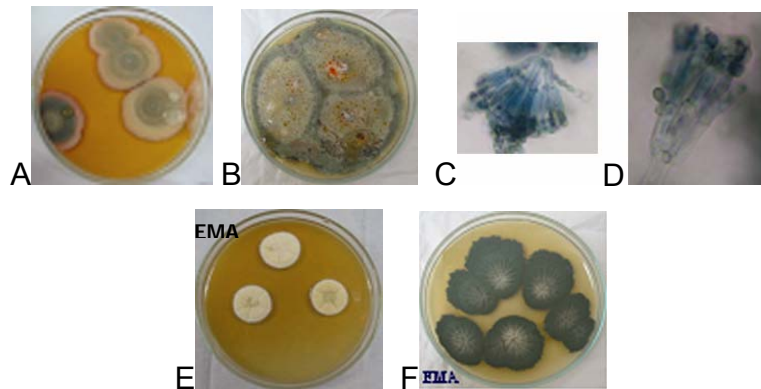


Figura 20. Observación macroscópica y microscópica de *Penicillium*. **A-D.** *P. expansu*. **E.** *Penicillium brevicompartum*. **F.** *Penicillium corylophilum*

- ***Trichoderma sp.***

Aislado y bioaumentado por producir extracelularmente enzimas celulolíticas. Presenta micelios hialinos septados, conidióforos piramidales con ramificaciones laterales donde se desarrollan fiálides cortas en grupos de dos a cuatro, los extremos de las fiálides se observan más alargados y delgados, conidias subglobosas de paredes lisas (Figura 4C-D). Considerados dentro de los productores de enzimas degradadores de lignina y celulosa, también utilizado por su alta producción de biomasa (Téllez-Jurado et al., 2006).

- **Familia Tuberculariaceae**

Mayoría parásitos de plantas produciendo chancro, marchitez, pudrición basal y radicular, enfermedad de semilleros. Productores de enzimas como lacasas (Verdin et al., 2004). Difícil de clasificar por su gran variedad. Se identificaron *Fusarium sp1*, *Fusarium sp.2* Y *Fusarium sp.3* (Figura 21).

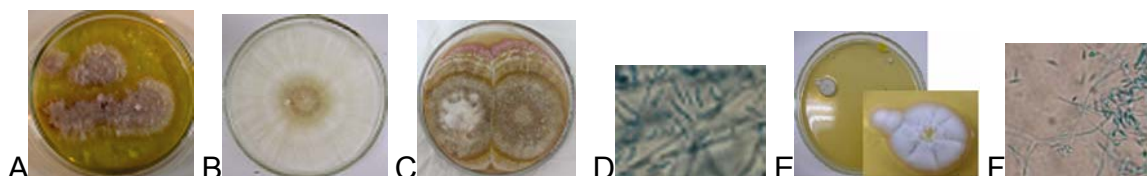


Figura 21. Observación de *Fusarium* **A.** *Fusarium sp.1*. **B-D** *F. sp.2*. **E-F** *F. sp.3*

- **Familia coprinaceae**

Coprinus sp presenta cuerpo fructífero que degrada lignina y celulosa, cuando la población se establece es un competidor efectivo (Corredor, 2002 y García, 2002), invadió todos los tratamientos al descender la temperatura (Figura 22).



Figura 22. Observación macroscópica de *Coprinus sp.* en compost.

En este material vegetal se presentan Zygomycetes con rápidas velocidades de crecimiento como *Rhizopus*, que crecen rápidamente en presencia de azúcares simples pero también declinan rápidamente. También participan hongos filamentosos como las levaduras (McCue and Shetty, 2005; Staszczak, 2007) y posteriormente los *Penicillium* y *Aspergillus* (orden Eurotiales). Luego invaden Basidiomycetes, hongos con cuerpo fructífero como *Coprinus*, que pueden degradar lignina y celulosa (Corredor, 2002; García, 2002).

3.4 CALIDAD SANITARIA

El recuento de *coliformes totales* fue significativamente diferente en todos los tratamientos (Anexo C), inició con $4 \cdot 10^{10}$ Unidades Formadoras de Colonias/gramo (UFC/g), disminuyó considerablemente en la etapa termofílica, presentando menor cantidad Vs y Ac (Tabla 8). Su contenido en los cuatro tratamientos fue bajo, la mayor disminución se dio en Ac. Al final de la biodegradación (75 días) se obtuvieron los valores más bajos en Vs y Vc. Los *Coliformes Fecales* en los residuos vegetales sin degradar también presentaron

recuentos muy altos, $5 \cdot 10^8$ UFC/g, deduciendo que se requería tratamiento térmico prologado para reducir significativamente patógenos. En etapa termofílica (8 días) disminuyó de 1 a 2 órdenes de magnitud en Vs, Vc y As; 5 ordenes de magnitud en Ac. Después de la maduración del compost (35 días) la concentración fue completamente disminuida en los tratamientos de volteo, en As disminuyó en 3 ordenes de magnitud, en Ac aumento 1 orden. Después del lombricompostaje los 4 tratamientos presentaron menos de 20 UFC/g deduciendo que el abono orgánico obtenido cumple con los estándares de calidad sanitaria.

Tabla 8. Recuento de microorganismos para evaluar calidad sanitaria

Parámetro	Día	Vs ⁺ (UFC/g)	Vc ⁺ (UFC/g)	As ⁺ (UFC/g)	Ac ⁺ (UFC/g)
	0	4,00E+10	4,00E+10	4,00E+10	4,00E+10
Coliformes	8	1,00E+08	1,00E+10	2,00E+10	2,00E+07
Totales	35	3,00E+02	1,00E+02	2,00E+02	1,00E+02
	75	8,00E+03	4,00E+03	2,00E+07	2,00E+07
	0	5,00E+08	5,00E+08	5,00E+08	5,00E+08
Coliformes	8	1,00E+06	3,00E+07	4,00E+07	2,00E+03
Fecales	35	0	0	1,00E+04	5,00E+04
	75	20	0	0	20
	0	1,40E+10	1,40E+10	1,40E+10	1,40E+10
Mesófilos	8	1,70E+09	2,80E+09	1,30E+11	4,00E+09
	35	9,00E+14	1,60E+15	2,60E+13	5,00E+12
	75	1,00E+16	6,00E+16	1,70E+14	7,00E+12
	0	2,70E+07	2,70E+07	2,70E+07	2,70E+07
Mohos y	8	1,40E+08	6,00E+07	1,00E+08	2,00E+07
levaduras	35	6,00E+10	4,70E+11	1,00E+11	4,00E+10
	75	4,00E+09	1,00E+08	1,00E+09	5,00E+09

	0	1,00E+03	1,00E+03	1,00E+03	1,00E+03
*CSR	8	1,70E+04	1,00E+05	3,00E+05	2,00E+03
	35	1,00E+03	1,00E+02	1,00E+03	5,00E+02
	75	1,30E+03	0	1,00E+03	3,00E+04

Vs : Volteo sin Microorganismos

Vc : Volteo con microorganismos

As : Aireación sin microorganismos

Ac : Aireación con microorganismos

*CSR: *Clostridium sulfito reductor*

+(UFC/g): Unidades formadoras de colonia/gramo de abono

Los mesófilos iniciaron en $1,4 \cdot 10^{10}$ UFC/g (Tabla 8), disminuyeron un orden de magnitud en Vs, Vc y Ac donde las temperaturas fueron superiores a 42 °C. En las siguientes dos etapas siguió aumentando el contenido de mesófilos con el orden $Ac < As < Vs < Vc$. Concluyendo que el volteo y grupo de microorganismos adicionados influyen en la colonización de microorganismos mesófilos. Siendo mayor con Vc. Mohos y levaduras en la etapa termofílica donde no se adicionaron microorganismos (Vs y As) aumentaron un orden de magnitud y no modificó en Vc y Ac. En 35 días aumentaron en el siguiente orden $Ac < Vs < As < Vc$; todos disminuyeron después del lombricompostaje en el orden $Vc < As < Vs < Ac$ (Anexo D). *Clostridium Sulfito Reductores* (CSR) aumentaron en fase termofílica en todos los tratamientos en el orden $As < Ac < Vs < Vc$. En 35 días redujeron, con menor cantidad en Vc, que luego fueron eliminados por las lombrices, pero permanecieron en los otros tres tratamientos (Tabla 8). *Salmonella* no se encontró en ningún muestreo. La eliminación de CSR, coliformes fecales, menor cantidad de coliformes totales y ausencia de *Salmonella* en Vc indican que es el más recomendado para reducir y eliminar patógenos, concluyendo que el lombricompost de Vc es apto para ser utilizado como mejorador o biofertilizante de suelos o sin riesgo sanitario.

3.5 RECuento DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS AL LOMBRICOMPOST

En la tabla 9 se presenta el recuento de microorganismos benéficos en medios selectivos. Las bacterias nitrificantes, *Azotobacter*, *Lactobacillus* y *Pseudomonas*

se presentaron en mayor número en el lombricompost proveniente de Vc; *Rizobium* y *Streptomices* en los cuatro tratamientos se presentaron en el mismo orden de magnitud, juegan papel en la química del suelo (Badillo y González, 1998).

Tabla 9. Recuento de microorganismos benéficos del lombricompost de los diferentes tratamientos

Microorganismos	Vs ⁺ (UFC/g)	Vc ⁺ (UFC/g)	As ⁺ (UFC/g)	Ac ⁺ (UFC/g)
Bacterias Nitrificantes	$5,8 \cdot 10^5$	$8,0 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^5$	$1,53 \cdot 10^6$
<i>Rizobium</i>	$3,8 \cdot 10^7$	$5,2 \cdot 10^7$	$4,2 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^7$
<i>Streptomices</i>	$2,9 \cdot 10^7$	$4,9 \cdot 10^7$	$2,8 \cdot 10^7$	$6,8 \cdot 10^7$
<i>Azotobacter</i>	$1,9 \cdot 10^7$	$3,3 \cdot 10^7$	$1,0 \cdot 10^6$	$2,8 \cdot 10^7$
<i>Lactobacillus</i>	$8,0 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^6$	$4,0 \cdot 10^6$
<i>Pseudomonas</i>	$1,0 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^4$	0	$3,0 \cdot 10^2$

Vs : Volteo sin Microorganismos Vc : Volteo con microorganismos

As : Aireación sin microorganismos Ac : Aireación con microorganismos

⁺UFC/g Unidades formadoras de colonias/gramo de abono

Al evaluarse la correlación entre los datos químicos y de microorganismos (Anexo E) se observa relación directa entre extraíbles y coliformes totales y fecales, concluyendo que no degradan azúcares, pigmentos entre otros; los mesófilos, mohos y levaduras presentan relación inversa con extraíbles, celulosa y lignina, es decir, que estos microorganismos aumentan disminuyendo extraíbles, celulosa y lignina: Hay relación directa de estos microorganismos con acidosolubles, AHF. Confirmando que los productos de la degradación de lignina representan fuente de energía y carbono para los microorganismos. En algunos casos, la disminución del contenido de lignina por especies de hongos correlaciona con los patrones de expresión de sus peroxidasas, MnP y MnP + LiP (Fackler et al., 2006).

3.6 FERTILIZACIÓN DEL SUELO Y APLICACIÓN AGRÍCOLA

3.6.1 Propiedades del suelo.

En el análisis de textura a la tierra amarilla del suelo de la UIS se encontró que pertenece a la clase franco-arcillo-arenosa con 60% de arena, 12% de limo y 28% de arcilla. Por el contenido de arena se puede esperar que tenga buena aireación y permeabilidad pero baja retención de agua, compensado con el contenido de arcilla superior al de un suelo ideal (10-25%) aporte positivo potencial a la actividad química dependiendo del pH, adsorbiendo iones o moléculas ricas en nutrientes y reteniendo agua. El alto valor en la arcilla lo haría un tanto impermeable, plástico y difícil de trabajar. La fracción de limo con poros medianos útiles para conducción de agua, no tiene propiedades coloidales por tanto no afecta mucho su bajo contenido. Va a responder bien a los abonos orgánicos y químicos que se le apliquen. El pH corresponde a suelo fuertemente ácido (Tabla 10). El diagnóstico químico a los diferentes compost y lombricompost permitió evaluar capacidad para suministrar nutrientes a las plantas, determinando deficiencia, posibles toxicidades y recomendar manejo para corregir niveles de macro y micronutrientes de la tierra del campus de la UIS por debajo del nivel crítico y pH muy bajo. El calcio que es el encargado del desarrollo radicular está dando en el rango de nivel bajo, el magnesio determinante para formación de clorofila es bajo; sodio participante de regulación del potencial hídrico es normal.

Tabla 10. Registro del Análisis Físicoquímico de Tierra amarilla UIS y Tierra:Lvc (proporción 2:1) realizado en el Laboratorio de Consultas Industriales de la UIS.

Tratamiento	pH	% C	P ⁺	*Ca	*Mg	*Na	*K	+Fe	+Mn	+B	+Cu	+Zn	%N _{total}
Tierra	5,6	0,37	3	3,03	0,37	0,02	0,08	6,4	0,16	0,14	0,08	1,2	0,15
Tierra:Lvc	6,6	2,5	6,3	20,5	5,91	0,52	4,2	29,6	2,56	0,99	1,12	12	1,34

Lvc: Lombricompost obtenido de aplicar volteo y microorganismos bioaumentados

+ppm * meq/100 g suelo

El potasio cuya función es regular la capacidad de absorción y evitar la clorosis, es bajo (clorosis observada en figura 25A). Respecto a los microelementos: Hierro, manganeso, boro y cobre que cumplen funciones reguladoras están por debajo de los niveles críticos. El zinc está dentro del rango aceptado (Tabla 10). El Nitrógeno para climas medios debe estar entre 0,2-0,3% bms y solo alcanza 0,15% bms (Anexo F).

3.6.2 Respuesta biológica de las plantas de frijol.

La germinación en los tratamientos de tierra-lombricompost se observó al segundo día de iniciado el proceso y al cuarto día en las sembradas en tierra. Con el transcurso del tiempo se distinguió diferencia marcada en altura y tamaño de las hojas (Figura 23). Las plantas desarrolladas en tierra:LvC presentaron la mayor altura, menor altura las de tierra sola, las de tierra-LVs, tierra-Las y tierra-LAc mostraron un desarrollo similar (Figura 24). Nuevamente se presentó mejor desarrollo en masa foliar (MF), masa del tallo (MT) y área foliar (AF) en plantas sembradas en la mezcla tierra-LvC.

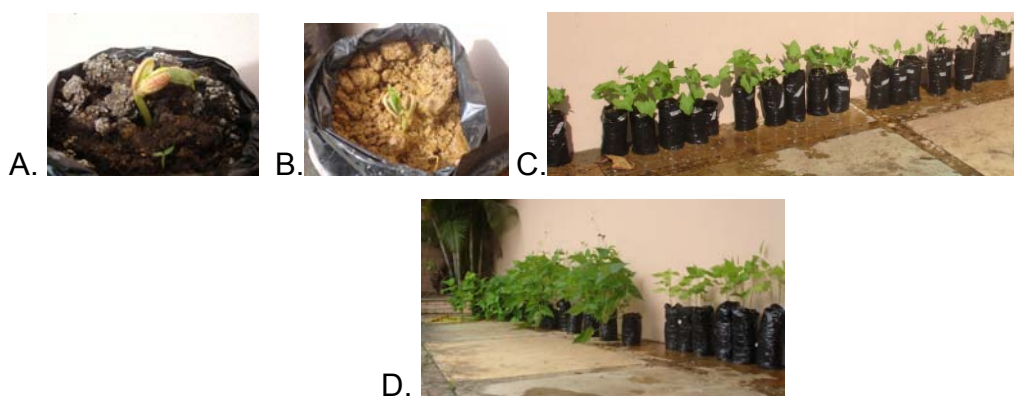


Figura 23. Germinación y crecimiento de plantas de frijol. **A.** Tierra:LvC **B.** Tierra **C.** Tierra:Lombricompost (izquierda) y Tierra (derecha) a 15 días de sembradas. **D.** Tierra:Lombricompost (izquierda) y tierra (derecha) a los 27 días de sembradas.

Para sustentar estadísticamente se determinó que para cada variable, los datos de los tratamientos presentaron distribución normal, consiguiendo probabilidades menores de 0.05 para normalidad y homogeneidad de varianza basadas en la mediana.

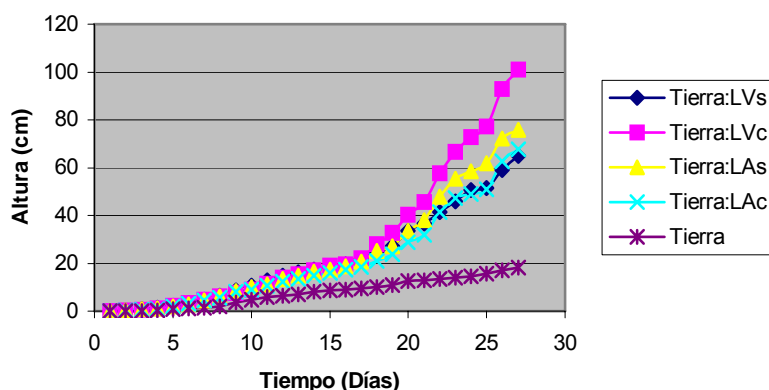


Figura 24. Altura de las plantas de frijol sembradas en los cinco tratamientos.

En el ANOVA para los frijoles se aceptó que existen diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 11). Con el test de Tukey se mostró que hay diferencia marcada; la biomasa total (BT) y masa foliar (MF) de tratamientos de Tierra, Tierra:LVs son diferentes entre ellos y con los otros tratamientos. Según área foliar hay dos grupos, Tierra, Tierra:LVs siendo menores y Tierra:LVs, Tierra:LVC, Tierra:LAs y Tierra:LAc mayores. En masa de tallo las sembradas en tierra son menores, le siguen Tierra:LVs y Tierra:LAs las cuales son similares y con mayor MT en plantas de Tierra:LAs, Tierra:LVC, Tierra:LAc. Según masa de raíz son menores y similares Tierra y Tierra:LVs, le siguen Tierra:LVs, Tierra:LVC y Tierra:LAs y finalmente Tierra:LAc.

Una razón para explicar el bajo crecimiento de plantas de frijol sembradas en tierra es que esta puede reducir la respiración de las raíces, hacer más lenta la absorción de minerales disminuyendo la síntesis de giberelinas y citoquininas y su transporte a las partes aéreas. Se concluye que con el lombricompostaje se

obtienen mejores resultados porque se aumenta la disponibilidad de nutrientes necesarios para germinación y crecimiento de las plantas de frijol, comprobado con la mejor apariencia de las plantas comparadas con las de tierra, catalogandolo como un bioabono mejorado por optimizar las condiciones fisicoquímicas y biológicas para buen desarrollo de semillas de frijol.

Tabla 11. Valores promedio \pm desviación estándar para las variables medidas en los frijoles en los cinco tratamientos, indicando los valores de probabilidades según ANOVA y significancia a posteriori según Test de Tukey.

Tratamiento	Biomasa total (BT)	Área Foliar (AF)	Masa Foliar (MF)	Masa de tallos (MT)	Masa de Raíz (MR)
Tierra	1,08 \pm 0,1 ^a	160,11 \pm 18,2 ^a	0,33 \pm 0,1 ^a	0,43 \pm 0,1 ^a	0,31 \pm 0,1 ^a
Tierra:LVs	4,25 \pm 1,3 ^b	584,83 \pm 173,7 ^{a,b}	1,43 \pm 0,7 ^b	1,71 \pm 0,9 ^b	0,70 \pm 0,5 ^a
Tierra:LVc	8,85 \pm 1,8 ^c	1973,80 \pm 295,1 ^b	4,12 \pm 0,7 ^d	3,18 \pm 0,9 ^c	0,84 \pm 0,6 ^{a,b}
Tierra:LAs	6,50 \pm 1,1 ^{c,d}	1171,99 \pm 296,7 ^b	2,45 \pm 0,5 ^c	2,56 \pm 0,6 ^{b,c}	1,52 \pm 0,4 ^b
Tierra:LAc	9,76 \pm 1,9 ^d	1457,8 \pm 308,8 ^{a,b}	3,51 \pm 0,6 ^{c,d}	3,18 \pm 0,6 ^c	2,86 \pm 1,1 ^c
Valor de F	82,275	69,401	28,424	29,988	14,562
g.l.	34	37	34	37	37
Probabilidad	P < 0,001 *	P < 0,001 *	P < 0,001 *	P < 0,001 *	P < 0,01 *

* Significancia por debajo al limite de confianza (P<0,01)

g.l. Grados de libertad

^{a,b,c,d} Sub-grupos homogéneos según test a posteriori de Tukey según P<0,05

Tabla 12. Registro del Análisis Físicoquímico en el compost y lombricompost (35 y 75 días de biodegradación, respectivamente) para los diferentes tratamientos de Vs, Vc, As y Ac.

Días	Trat	pH	% C	P ⁺	Ca _{total} [*]	Mg _{total} [*]	K _{total} [*]	Fe _{total} ⁺	Mn _{total} ⁺	Cu _{total} ⁺	Zn _{total} ⁺	%N _{total}
35	Vs	7,36	29,09	9,8	0,474	0,13	0,0065	3860	60	N.D.	16050	0,32
	Vc	7,17	25,65	17	1,07	0,17	0,0072	4630	80	N.D.	17880	0,8
	As	7,29	30,89	12,3	0,89	0,12	0,0076	3450	80	N.D.	3130	0,51
	Ac	7,3	24,99	12	0,587	0,12	0,0015	4610	60	N.D.	5990	0,94
75	Vs	7,65	13,42	1789	1,43	0,27	0,018	6550	250	N.D.	23370	0,33
	Vc	7,3	13,31	1130	1,15	0,156	0,0085	3420	80	N.D.	24300	0,45
	As	7,7	15,06	1024	1,2	0,26	0,0027	4880	210	N.D.	10100	0,31
	Ac	7,72	10,81	1140	1,17	0,31	0,015	9520	230	N.D.	9550	0,43

⁺ppm

^{*}meq/100 g suelo

Análisis realizado en el Laboratorio de Consultas Industriales de la UIS



Figura 25. Plantas de frijol a los 27 días de sembradas. A. Sembradas en Tierra amarilla del suelo de la UIS. B. Sembradas en Tierra:LVc (proporción 2:1)

3.6.3 Caracterización del suelo conformado por mezcla tierra del suelo de la UIS y lombricompost obtenido por volteo con adición de microorganismos en proporción 2:1.

Al hacer el análisis de textura en el Laboratorio Químico de Suelos de la UIS se encontró que pertenece a la clase franco arenosa con una distribución del 68% de arena, 16% de limo y 16% de arcilla; hace a la mezcla un suelo ligeramente alto en porcentaje de arena respecto al suelo ideal de textura franco, cuya proporción en el contenido de arena esta entre 50-65%; por lo que va a presentar buena aireación; se incrementa el contenido de limo que por su porosidad media ayuda a conducción de agua, en las interfases ocurren fenómenos específicos como tensión superficial y fricción. Por el contenido de arcilla hay mejora en la plasticidad haciendo menos asfixiante el suelo, la aireación del suelo induce a cambio químico en el medio al ser un complejo coloidal predominantemente orgánico.

Entre los cambios interesantes esta en el pH de 7,3 de Tierra:LVc, el cual modifica mezcla aumentando la Capacidad de Intercambio Catiónico a 21 meq/100 g. La arcilla constituida por minerales de estructura eminentemente cristalina, conformados por láminas de tetraédros de sílice a láminas de octaédros en el que Al, Mg o Fe actúan coordinados de seis oxígenos o seis hidróxilos.

La carga negativa de las arcillas se deriva de dos fuentes, una ionización de grupos hidroxilos (OH) ligados a átomos de Si de los extremos libres rotos de la lámina tetraédrica de sílice y alúmina que a pH's elevados el H del hidróxilo sufre ligera disociación quedando insatisfecha una de las valencias negativas del oxígeno, luego en la superficie de las partículas de arcilla se forman micelas coloidales con carga neta negativa y otra sustitución de un átomo por otro dentro de la red cristalina de los minerales, "sustitución isomórfica" donde en su estructura los átomos de aluminio (+3) son sustituidos magnesio (+2) quedando una carga negativa sin balancear, el cristal adquiere capacidad potencial de atraer cationes dentro de su espacio interlamina y en su superficie. De la primera fuente de carga (-) depende del pH, incrementando el pH, variación a la que también contribuyen grupos carboxilo y fenólicos de los coloides orgánicos. Hay correlación significativa entre fijación de NH_4 y porcentaje de arcilla+limos.

Por esto se concluye que aunque el porcentaje de arcilla es menor en la mezcla tierra:LVC, el modificar la mezcla a pH de 6,6 respecto al de 5,6 de la tierra sola, hace que los valores de los cationes se incrementen regulando las condiciones del suelo. El calcio se encontró en nivel alto y en las plantas de frijol sembradas se observó mayor desarrollo de brotes terminales, de los tejidos apicales de las raíces y sus hojas no presentaron decoloración. El magnesio también incrementó a niveles altos y no se detectó clorosis (Figura 25B-C), sodio y potasio normales, responsables del crecimiento de tejidos meristemáticos e intervienen en funciones fisiológicas. Hierro y boro son adecuados, zinc es alto, cobre permanece algo bajo sin darse ruptura de hojas jóvenes ni muerte de brotes. Fósforo duplicó su valor, esencial para división celular y resistencia a enfermedades.

CONCLUSIONES

La etapa termofílica se alcanzó a los 8 días, la segunda mesofílica a los 35 días y el final del lombricompostaje se obtuvo a los 75 días de iniciada la biodegradación. La temperatura de tratamientos de Aireación artificial fue en mayoría de casos menor respecto a los de volteo, no hay garantía de ausencia de patógenos al final del proceso en As y Ac;

El pH establecido cumplió con los valores de las normas establecidas para compost maduros.

Se observa una competencia entre los hongos, requiriendo buena cantidad de nutrientes para su crecimiento y reproducción. El espacio, agua y oxígeno también son importantes. Por esto usan mecanismos de competencia como inhibidores, recuperación rápida, crecimiento, esporulación y nicho especial.

En este material vegetal se presentaron Zygomycetes como *Rhizopus* con altas velocidades de crecimiento en presencia de azúcares simples, también participan hemiascomycetes como levaduras y posteriormente los Loculoascomycetes como los *Penicillium* y *Aspergillus*, finalmente invaden basidiomycetes como *Coprinus*, competidores efectivos cuando la población está establecida.

Enterobacter aerogenes, *Lactobacillus* y *Trichoderma sp.* no colonizaron, *Pseudomona aeruginosa* lo hizo en Vc en la etapa termofílica. *Aspergillus fumigatus* dominó en mayoría de etapas. *Geotrichum sp.* en etapa termofílica se encontró en As, en la maduración en Vs, As y Ac. *Aspergillus wentii* solo colonizó en la maduración en Vs. El hongo *Penicillium expansum* colonizó en los experimentos con volteo en etapa termofílica, volteo y Ac a los 35 y en el lombricompost.

El lombricompost resultante de Vc es apto para ser utilizado como mejorador de suelos o biofertilizante sin ningún riesgo de tipo sanitario, por la eliminación de CSR, coliformes fecales, menor cantidad de coliformes totales y la ausencia de *Salmonella*. Además favorece el transporte de nutrientes y mejorando la productividad del suelo ya que podrá facilitar mecanismos de absorción por las raíces y aportará al suelo las principales propiedades químicas como formación de complejos coloidales, capacidad de intercambio catiónico.

En primeras fases la degradación de ligninas es más lenta porque intervienen microorganismos que utilizan carbohidratos y otros compuestos de fácil descomposición, la aireación artificial influyó positivamente la degradación de lignina y la actividad de las lombrices fue poco influenciada con el grado de deslignificación alcanzado en los diferentes compostajes.

Su transformación en sustancias húmicas en todos los procesos fue aumentando, en etapa termofílica por los microorganismos adicionados; en el enfriamiento, maduración y lombricompostaje además de estos microorganismos por el volteo, confirmado con los índices de humificación. Se dió una función ecológica, ya que los residuos se devolvieron a la naturaleza aportando componentes húmicos, pequeñas cantidades de nitrógeno, fósforo, potasio y otros elementos menores.

El sistema por sí requiere una fuente de nitrógeno (usando urea), la cual no se utilizó debido a que se quería trabajar en condiciones normales para no incrementar costos.

RECOMENDACIONES

Se recomienda que las camas donde se encontraban los montículos de residuos sean un poco más bajas (10 centímetros aproximadamente), además las pilas o montículos deben tener una altura considerable para alcanzar mayores temperaturas en las etapas termofílicas, ya que de la eficiencia de esta depende la calidad del compost.

Viendo la necesidad del aporte de una fuente de nitrógeno se recomienda transportar el material ya compostado a Guatiguará para ser mezclado con estiércol de ganado vacuno y ese material ya estabilizado ser usado en mantenimiento de jardines.

Se hace sugerencia de la utilización de conglomerado de hongos no de bacterias, ya que las bacterias adicionadas en los bioaumentos no se encontraron en los siguientes muestreos lo cual indica que se presentó dominio por parte de los hongos.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, Y., POLINY, J. y BENITEZ, E. 2004. Índice de humificación y pruebas de fototoxicidad en residuos orgánicos de uso agrícola potencial. Rev. Agron. 21(4):185-194.

ARANTES, V., FERREIRA, M. A. 2007. The synergistic action of ligninolytic enzymes (MnP and Laccase) and Fe³⁺-reducing activity from white-rot fungi for degradation of Azure B. Enzyme and Microbial Technology 42: 17–22

ARZUAGA, C. J., RODRÍGUEZ, B. A. y SERRANO, V. W. 1999. Diseño y construcción de un biorreactor para la fermentación en estado sólido de residuos sólidos orgánicos y su transformación en biocompost. Tesis de Grado. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas y Escuela de Ingeniería Mecánica. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. Pp. 30, 88

BADILLO, G. L. y GONZÁLEZ, S. G. 1998. Biodegradación de Paraquat mediante microorganismos aislados del suelo. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Bucaramanga. P. 77.

BELTRAN, G. I. 2003. Obtención de biocompost a partir de tres variedades de yuca (Armrnia, chile y amarga), usando el proceso oxigénico. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Bucaramanga. P.p. 28, 59,72

BLANCO, D. 1994. La materia orgánica y el humus en la agricultura sostenible. Sephu. Zaragoza. España. P. 51

BOX, G. E., HUNTER, W.G. y HUNGER J.S. 1993. Introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y construcción de modelos. Ed. Reverte. P. P. 317-324.

BATT, C. and SOLBERG, M. 1985. Association of laccase activity with conidiation in an aflatoxigenic strain of *Aspergillus parasiticus*. Microbiology Letters. 27:277-280

CADENA, G. A. J. 2001. Propuesta para la transformación de residuos sólidos orgánicos en abono utilizando Microorganismos autóctonos. Universidad Industrial de Santander. Monografía de Especialización en Microbiología Ambiental. Bucaramanga.

CADAVID, J.L.; VEGA, J. V. y SILVA, M. F. 1963. Métodos analíticos del laboratorio de Suelos. IT-6. Segunda Edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Departamento Agrológico. Bogota. P.p. 3-6.

CAICEDO, R. Y. 2002. Efectos del proceso de fermentación sobre la microbiota fúngica de la gallinaza. Tesis de grado. Universidad Industrial de Santander. P.p. 46.

CAMPOS, M. y LUGO, S. 1998. Evaluación de los proyectos de compostaje en el Ecuador. Fundación Natura, REPAMAR, CEPIS, G.T.Z. Quito. P.p. 16.

CARMEN, C; GÓMEZ, Z y MIRANDA, J. 1996. Caracterización de los ácidos húmicos extraídos de cuatro lombricompostos y su efecto sobre la germinación de las semillas de maíz, algodón y tomate. Acta agronómica. Vol. 46:30-36.

CHEFETZ, B.; CHEN and HADAR, Y. 1998. Purification and Characterization of Laccase from *Chaetomiun thermophilum* and ITS Role in Humification. Applied and Environmental Microbiology 64: 3175-3179.

CAYUELA, M. L., BERNAL, M. P. and ROIG, A. 2004. Composting olive mill waste and sheep manure for orchard use. *Compost Science & utilization*. 12(2): 130-136

CHI, Y., HATAKKA, A. and MAIJALA, P. 2007. Can co-culturing of two white-rot fungi increase lignin degradation and the production of lignin-degrading enzymes? *International Biodeterioration & Biodegradation* 59: 32–39

CORREDOR, G. A. 2002. Delignificación del residuo fibroso del fruto de la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq.) con *Coprinus niveus* por fermentación en estado sólido. Universidad Pontificia Javeriana y Universidad Industrial de Santander. Postgrado en Maestría en Microbiología. Bucaramanga.

CURTIS, H. y BARNES, N. 2000. *Biología*. Sexta edición. Pp. 796, 799.

DANIEL, G., VOLC, J. and NIKU-PAAVOLA, M-L. 2004. Cryo-FE-SEM & TEM immuno-techniques reveal new details for understanding white-rot decay of lignocellulose. *C. R. Biologies* 327: 861–871

DATTA A.; BETTERMAN, A. and KIRK, K. T. 1991. Identification of a specific manganese peroxidase among ligninolytic enzymes secreted by *Phanerochaete chrysosporium* during wood decay. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 1453-1460.

EMISON, 2004. El reciclado. Disponible en: <http://www.emison.com/5051.htm>

FERRUZZI, C. 1994 *Manual de lombricultura*. Bilbao: grafo, S.A.

FACKLER, K., GRADINGER, C, HINTERSTOISSER, B, MESSNER, K and SCHWANNINGER, M. 2006. Lignin degradation by white rot fungi on spruce wood

shavings during short-time solid-state fermentations monitored by near infrared spectroscopy. *Enzyme and Microbial Technology* 39: 1476–1483

FERNÁNDEZ, L., LOGUERCIO-LEITE, C., ESPOSITO, E., and MENEZES, R. M. 2005. In vitro wood decay of *Eucalyptus grandis* by the basidiomycete fungus *Phellinus flavomarginatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 55:187-193

GARCIA-GOMEZ, A. B. BERNAL, M. P. and ROING, A. 2005. Organic matter fraction involved in degradation and humification processes during composting. *Compost Science and Utilization*. Vol. 13: 127-135.

GARCÍA, H. M.R. 2002. Producción de biocompost a partir de residuos lignocelulósicos mediante *Coprinus niveus*. Universidad Industrial de Santander. Postgrado en Microbiología Industrial. Bucaramanga.

GLAZER, A. N. and NIKAIDO, H. 1998. Microbial biotechnology. Fundamentals of applied microbiology. Ed. W. H. Freeman and Company. P. p. 341-358.

GÓMEZ, Z. J. 2000. Abonos orgánicos. Universidad Nacional de Colombia. Santiago de Cali.

GONZALEZ, C and MORALES, J. J. 2007. Vermicomposting Fit Needs Of A Developing Country. *BioCycle*. P. 64-69

GUILLÉN, F.; MUÑOZ, C.; GÓMEZ, T. V.; MARTÍNEZ, A. T. and MARTÍNEZ, M. J. 2000. Oxygen Activation during Oxidation of Methoxyhydroquinones by Laccase from *Pleurotus eryngii*. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 170-175.

HERNÁNDEZ, L. R. 1990. Obtención de compost a partir de Residuos Orgánicos de las Basuras. Universidad Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química Bucaramanga. P.p. 40.

JAGER, T. 2004. Modeling ingestion as an exposure route for organic chemicals in earthworms (Oligochaeta). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol 57:30–38.

KIM, S. and T. CHOI, H. 1995. Characteristics of a laccase over-secreting mutant of *Coprinus congregatus*. *Microbiology Letters*. Vol. 132: 177-179.

KUHAD, R. C., SINGH, A. and ERIKSSON K. E. L. 1997. Biotechnology in the Pulp and Paper Industry. Ed. K.E.L. Eriksson. Springer Verlag, Heidelberg, Germany, Pp.45-125.

LECHNER, B. E. and PAPINUTTI, V. L. 2006. Production of lignocellulosic enzymes during growth and fruiting of the edible fungus *Lentinus tigrinus* on wheat straw. *Process Biochemistry* 41: 594–598.

LEON, C. G. 1995. Manual de análisis de suelos agrícolas. Secretaría de Agricultura. Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander.

LUGO, S y GITSCHER, U. 1998. Evaluación de los proyectos de Compostaje en el Ecuador. Fundación Natural REPAMAR-CEPIS, Quito.

McCUE P. P. and SHETTY, K. 2005. A model for the involvement of lignin degradation enzymes in phenolic antioxidant mobilization from whole soybean during solid-state bioprocessing by *Lentinus edodes*. *Process Biochemistry* 40: 1143–1150.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J.M. y PARKER, J. 1998. Brock. Biología de los microorganismos. 8ª edición. Ed. Prentice may. España. P.p. 57-518, 434, 576.

MONDINNI, C.; SANCHEZ-MONEDERO, M. A.; SINICCO, T. and LEITA, L. 2006. Evaluation of Extracted Organic Carbon and Microbial Biomasa as Stability Parameters in Ligno-Cellulosic Waste Compost. *Journal of Environmental Quality*. 35 (6): 2313-2320.

MONTGOMERY, D. C. 2005. *Diseño y análisis de experimentos*. Segunda edición. Limusa Wiley. P.p., 96 -103, 219.

MORI, K. and ABE, K. 1995. Synthesis and absolute configuration of (-)-koninginin A. *Org. Bioorg. Chem.* 1995: 943-948.

MUÑOZ, C. F., GUILLÉN, A. T., and MARTINEZ, M. J. 1997. *Applied and Environmental Microbiology*. 63: 2166.

NOVOTNÝ, Č, SVOBODOVÁ, K., ERBANOVA, P., CAJTHAML, T., KASINATH, A., LANG, E. and ŠAŠEK, V. 2005. Ligninolytic fungi in bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate. *Soil Biology & Biochemistry* 36: 1545–1551.

OROZCO, P. F.H. y OSORIO, V.W. 1996. *Residuos orgánicos. Aprovechamiento agrícola como abono y sustrato*. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. P.p. 44-46.

RAMÍREZ, P. y COHA, J. M. 2003. Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Revistas de Perú biológica*. 10(1): 67-77.

SANJUAN, R. 1997. *Obtención de pulpas y propiedades de las fibras para papel*. México: Universidad de Guadalajara, Departamento de madera, celulosa y papel. p. 74-80.

SHAH, V. and NERUD, F. 2002. Lignin degradation system of white-rot fungi and its exploitation for dye Decolorization. *Canadian Journal of Microbiology* 48: 857-871.

SHAH, M., REDDY, G.V, BANERJEE, R., RAVINDRA B. P. and KOTHARI, I. L. 2005. Microbial degradation of banana waste under solid state bioprocessing using two lignocellulolytic fungi (*Phylosticta* spp. MPS-001 and *Aspergillus* spp. MPS-002). *Process Biochemistry* 40: 445–451.

SHIGEMITSU, H. 2000. *Bacillus* decomposing turt pseudos thatchi and thatch, and a microbial material containing the *Bacillus*. Us. Patent No. 6, 165.

SINGH, A. and SHARMA, S. 2003. Effect of microbial inocula on mixed solid waste composting, vermicomposting and plant response. *Compost Science y Utilization* 11: 190-196.

SOMASEGARAN, P. and HOBEN, H. J. 1985. *Methods in Legume-Rhizobium Technology*. University of Hawaii Niftal. Department of Agronomy and Soil Science. Hawaii.

STASZCZAK, M. 2007. The 26S proteasome of the lignin-degrading Basidiomycete *Phlebia radiata*. *Enzyme and Microbial Technology* 40 :347–353.

TAIZ, L. and ZEIGER, E. 2006. *Plant Physiology*. Fourth Edition. Ed. Sinauer. Sunderland. Massachusetts. P.p. 325.

TÉLLEZ-JURADO, A., ARANA-CUENCA, A, GONZÁLEZ, B. A., VINIEGRA-GONZÁLEZ, G. and LOERA, O. 2006. Expression of a heterologous laccase by *Aspergillus niger* cultured by solid-state and submerged fermentations. *Enzyme and Microbial Technology* 38: 665–669.

TAPPI. Technical Association of the Pulp and Paper Industry. 1962. New York.

TRPATHI, G. and BHARDWAJ, P. 2004. Comparative studies on biomasa production, life cycles and composting efficiency of *Eisenia fetida* (Savigny) and *Lampito mauritti* (Kinberg).

VALENCIA, Z. H. 1996. Manual de Practicas de Microbiología del Suelo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Santafe de Bogota.

VARES, T.; KALSI, M. and HATAKKA, A. 1995. Lignin Peroxidases, Manganese Peroxidases, and Other Ligninolytic Enzymes Produced by *Phlebia radiata* during Solid-State Fermentation of Wheat Straw. Applied and Environmental Microbiology 61: 3515-3520.

VERDIN, A., LOUNES-HADJ, S. A. and DURAND, R. 2004. Degradation of benzo[a]pyrene by mitosporic fungi and extracellular oxidative enzymes. International Biodeterioration & Biodegradation 53 :65 – 70.

VINNERÅS, B.; BJÖRKLUND, A. and JÖNSSON, H., 2003. Thermal composting of faecal matter as treatment and possible disinfection method-laboratory-scale and pilot-scale studies. Bioresource Technology. Vo. 88: 47-54.

WU, I.; MA, L. Q. and MARTINEZ, G. A. 2000. Comparison of Methods for Evaluating Stability and Maturity of Biosolids Compost. Journal of Environmental Quality. 29(2):424-429.

ZAMBRANO, G. 2000. Abonos Orgánicos. Santiago de Cali. Universidad Nacional de Colombia. Pp. 72 – 85.

ANEXOS

ANEXO A. MEDIO DE CULTIVO PARA MICROORGANISMOS BENÉFICOS

Medio de cultivo para Bacterias Nitrificantes (Valencia 1996)

K ₂ HPO ₄	1,0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2 g
CaCO ₃	1,0 g
NaCl	0,2 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,005 g
Glucosa	10 g
Agar	20 g
Agua destilada	1000 mL

Ajustar pH a 7,0

Esterilizare a 15 libras de presión y 121 minutos durante 15 minutos

Medio de cultivo para *Rizobium* (Somasegaran y Hoben, 1985)

CaCl ₂	0,1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,12 g
KH ₂ PO ₄	0,1 g
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0,15 g
Citrato férrico	0,005 g
Mn, Cu, Zn, B, Mo	Trazas
Agar	15 g
Agua destilada	1000 mL

Ajustar pH a 6,5

Esterilizare a 15 libras de presión y 121 minutos durante 15 minutos

Medio de cultivo para *Streptomyces* (Valencia, 1996)

L-asparagina	0,13
K ₂ HPO ₄	0,13 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,003 g (trazas)
Agar	16 g
Agua destilada	1000 mL

Ajustar pH a 7,0

Esterilizare a 15 libras de presión y 121 minutos durante 15 minutos

Medio de cultivo para *Azotobacter*

Al medio LMA se le agrega Benzoato en una proporción de 3%

Al medio LMA + NaCl (3%)+ Zn (80mg)+ Al (10 mg)+ Mn (5 mg)+ Cu (80 mg).

Todo esto es para un litro de medio LMA

Medio para *Streptomyces*, GYM (Actinomicetos)

Glucosa	4 g
Extracto de levadura	4 g
Extracto de malta	10 g
CaCO ₃	2 g
Agar	12 g
Agua destilada	1000 mL

Ajustar pH a 7,2 con KOH antes de adicionar agar

Esterilizare a 15 libras de presión y 121 minutos durante 15 minutos

ANEXO C. ANALISIS DE VARIANZA TIPO MLG DE DOS FACTORES (4 X 4) DEL RECUESTO DE MICROORGANISMOS PARA EVALUAR CALIDAD SANITARIA

		Coliformes totales	Coliformes fecales	Mesofilos	Mohos y levaduras	*CSR
Tratamiento (Factor A)	Valor F	2585,37	1003,92	7504,56	272,78	2362,36
	G.L.	3	3	3	3	3
	Significancia	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001
Muestreo (Factor B)	Valor F	102263,38	54143,17	113116,03	49315,95	2721,00
	G.L.	3	3	3	3	3
	Significancia	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001
A X B	Valor F	3100,66	3352,21	4712,84	1430,50	4759,20
	G.L.	9	9	9	9	9
	Significancia	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001
G.L Totales		47	47	47	47	47

*CSR: *Clostridium Sulfito Reductor*

ANEXO D. PROMEDIO ± DESVIACIÓN ESTÁNDAR (APLICANDO LOGARITMO NATURAL) Y TEST DE TUKEY PARA EVALUAR CALIDAD SANITARIA Letras en superíndices muestra los sub grupos formados según P<0,05 para el Test de Tukey.

Trat	Día de muestreo	Coliformes totales	Coliformes fecales	Mesofilos	Mohos y levaduras	(CSR)*
Vs	0	24,4 ± 0,03 ^a	20,0 ± 0,20 ^a	23,4 ± 0,07 ^a	17,1 ± 0,04 ^a	6,9 ± 0,10 ^a
	8	18,4 ± 0,10 ^b	13,8 ± 0,00 ^b	21,3 ± 0,06 ^b	18,8 ± 0,07 ^b	9,7 ± 0,06 ^b
	35	5,7 ± 0,07 ^c	0,0 ± 0,00 ^c	34,4 ± 0,11 ^c	24,8 ± 0,00 ^c	6,9 ± 0,10 ^a
	75	9,0 ± 0,13 ^d	3,0 ± 0,05 ^d	36,8 ± 0,10 ^d	22,1 ± 0,00 ^d	7,2 ± 0,08 ^c
Vc	0	24,4 ± 0,03 ^a	20,0 ± 0,20 ^a	23,4 ± 0,07 ^a	17,1 ± 0,04 ^a	6,9 ± 0,10 ^a
	8	23,0 ± 0,10 ^e	17,2 ± 0,07 ^e	21,8 ± 0,04 ^e	17,9 ± 0,00 ^e	11,5 ± 0,10 ^d
	35	4,6 ± 0,10 ^f	0,0 ± 0,00 ^c	35,0 ± 0,06 ^f	26,9 ± 0,02 ^f	4,6 ± 0,10 ^e
	75	8,3 ± 0,26 ^g	0,0 ± 0,00 ^c	38,6 ± 0,00 ^g	18,4 ± 0,10 ^g	0,0 ± 0,00 ^f
As	0	24,4 ± 0,03 ^a	20,0 ± 0,20 ^a	23,4 ± 0,07 ^a	17,1 ± 0,04 ^a	6,9 ± 0,10 ^a
	8	23,7 ± 0,05 ^h	17,5 ± 0,26 ^e	25,6 ± 0,08 ^h	18,4 ± 0,10 ^g	6,9 ± 0,10 ^a
	35	5,3 ± 0,10 ⁱ	9,2 ± 0,10 ^f	30,9 ± 0,04 ⁱ	25,3 ± 0,10 ^h	12,6 ± 0,00 ^g
	75	16,8 ± 0,05 ^j	0,0 ± 0,00 ^c	32,8 ± 0,06 ^j	20,7 ± 0,10 ⁱ	6,9 ± 0,10 ^a
Ac	0	24,4 ± 0,03 ^a	20,0 ± 0,20 ^a	23,4 ± 0,07 ^a	17,1 ± 0,04 ^a	6,9 ± 0,10 ^a
	8	16,8 ± 0,05 ^j	7,6 ± 0,05 ^g	22,1 ± 0,00 ^k	16,8 ± 0,05 ^j	7,6 ± 0,05 ^h
	35	4,6 ± 0,00 ^f	10,8 ± 0,00 ^h	29,2 ± 0,00 ^l	24,4 ± 0,00 ^k	6,2 ± 0,00 ⁱ
	75	16,8 ± 0,05 ^j	3,0 ± 0,05 ^d	29,6 ± 0,00 ^m	22,3 ± 0,00 ^l	10,3 ± 0,00 ^j

*CSR: *Clostridium Sulfito Reductor*

ANEXO E. CORRELACIÓN (r) PARA MICROORGANISMO Y VARIABLES QUÍMICAS*

Trat	Parámetro	ExAB	ExA	ExH ₂ O	Celulosa	Lignina	hidrosolub	ácidosolub	huminas	AHF
Vs	Coliformes totales	0,73	0,94	0,85	0,86	0,89	0,96	-0,82	0,86	-0,88
	Coliformes fecales	0,74	0,94	0,85	0,87	0,90	0,96	-0,82	0,86	-0,88
	Mesofilos	-0,80	-0,97	-0,67	-0,82	-0,93	-0,89	0,75	-0,70	0,71
	Mohos y levadura	-0,59	-0,88	-0,75	-0,75	-0,81	-0,89	0,70	-0,76	0,78
Vc	Coliformes totales	0,74	0,98	0,92	0,80	0,86	0,88	-0,80	0,87	-0,88
	Coliformes fecales	0,82	0,98	0,95	0,88	0,92	0,93	-0,88	0,93	-0,94
	Mesófilos	-0,80	-0,97	-0,93	-0,87	-0,97	-0,85	0,85	-0,93	0,94
	Mohos y levadura		-0,63							
	CSR		0,80	0,76	0,71	0,89	0,61	-0,67	0,79	-0,79
As	Coliformes totales		0,75	0,64		0,62	0,61			
	Coliformes fecales	0,93	0,95	0,97	0,96	0,99	0,92	-0,96	0,97	-0,96
	Mesofilos	-0,83	-0,99	-0,97	-0,95	-0,99	-0,96	0,88	-0,93	0,94
	Mohos y levadura		-0,77	-0,65		-0,64	-0,66			
Ac	Coliformes totales		0,69				0,70			
	Coliformes fecales	0,84	0,63	0,91	0,91	0,81	0,64	-0,75	0,90	-0,91
	Mesofilos	-0,86	-0,97	-0,76	-0,79	-0,90	-0,97	0,90	-0,75	0,75
	Mohos y levadura	-0,79	-0,95	-0,72	-0,73	-0,84	-0,95	0,80		0,67
	*CSR	-0,66			-0,64			0,67	-0,74	0,72

Solo se muestran correlaciones con p<0,01

CSR: *Clostridium Sulfito Reductor*

ANEXO F. CONSIDERACIONES GENERALES DE ANÁLISIS DE SUELOS*

pH 1:1	Apreciación	P ppm Bray II	K meq/100 g de suelo	% Materia Orgánica			% Nitrogeno total			CICA meq/100 g de suelo	Saturación bases * %
				Clima			Clima				
				Frío	Medio	Cálido	Frío	Medio	Cálido		
< 4,5	Bajo	< 15	< 0,1	< 5	< 3	< 2	< 0,25	< 0,15	< 0,1	< 10	< 35
extremadamente ácido	Medio	15 - 30	0,2 - 0,3	5,0 - 10	3,0 - 5,0	2,0 - 4,0	0,26 - 0,5	0,2 - 0,3	0,1 - 0,2	10,0 - 20,0	35 - 50
4,6 - 5,0	Alto	> 30	> 0,3	> 10	> 5	> 4	> 0,5	> 0,3	> 0,2	> 20	> 50
muy fuertemente ácido	Apreciación	RELACIONES				Clasificación de acuerdo a sales y sodio			Saturación Aluminio %	Apreciación	
5,1 - 5,5		Ca / Mg	Mg / K	Ca / K	(Ca + Mg) / K	CE dS/m	PSI %	Clase			
fuertemente ácido	Relación ideal	2,0 - 4,0	3	6	10	0 - 2,0	Inferior a 15	Normal	< 15	Sin problemas en general. limitante para cultivos susceptibles	
5,6 - 6,0	K deficiente		>18	> 30	> 40	2,0 - 4,0		Limite			
6,1 - 6,5	mg deficiente	> 10	< 1			4,0 - 8,0		S1	15 - 30	Limitante para cultivos moderadamente tolerantes	
ligeramente ácido	nivel critico	Elementos menores				> 16		S2			
6,6 - 7,3		Zn	Cu	Mn	Fe	0 - 4,0	Superior a 15	S3	30 - 60	Limitante para cultivos tolerantes	
7,4 - 7,8	SUELO	4,0 - 6,0	3,0 - 4,0	20 - 50	80 - 100	4,0 - 8,0		Na			
LIGERAMENTE ALCALINO						8,0 - 16		Na S1	> 60	Niveles tóxicos mayoría de cultivos	
7,9 - 8,4	PLANTA	30 - 100	5,0 - 25	30 - 200	60 - 500	> 16	Na S2				
MEDIANAMENTE ALCALINO							Na S3				
8,5 - 9,0	FUERTEMENTE ALCALINO	* Extractables con DTPA									