

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS**

**AMBIENTALES**



**“PRETRATAMIENTO DE ESTIÉRCOL VACUNO PARA  
PRODUCCIÓN DE HUMUS SUPRESOR A TRAVÉS DE LA  
INTERRELACIÓN DE *Eisenia foetida* Y MICROORGANISMOS  
BENÉFICOS”**

**Presentada por:**

**SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARI**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR  
*DOCTORIS PHILOSOPHIAE* EN INGENIERÍA Y CIENCIAS  
AMBIENTALES**

**Lima – Perú**

**2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS  
AMBIENTALES**

**“PRETRATAMIENTO DE ESTIÉRCOL VACUNO PARA  
PRODUCCIÓN DE HUMUS SUPRESOR A TRAVÉS DE LA  
INTERRELACIÓN DE *Eisenia foetida* Y MICROORGANISMOS  
BENÉFICOS”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR**

*Doctoris Philosophiae*

**Presentada por:**

**SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARI**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

Ph.D. Sady García Bendezú  
**PRESIDENTE**

Dr. Víctor Meza Contreras  
**PATROCINADOR**

Ph.D. Julio Alegre Orihuela  
**MIEMBRO**

Dr. César Pizardi Díaz  
**MIEMBRO**

Dr. Lorgio Gilberto Valdiviezo Gonzales  
**MIEMBRO EXTERNO**

## **DEDICATORIA**

A toda mi familia mi fuente permanente de inspiración

Por su aliento y confianza siempre.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por guiar mi camino, por permitir que se den las cosas.

Al Dr. Víctor Meza por patrocinar la investigación y orientación en el desarrollo del trabajo.

A los miembros del jurado: Ph.D. Sady García, Ph.D. Julio Alegre, Dr. César Pizardi y Dr. Lorgio Gilberto Valdiviezo Gonzales por su valioso apoyo y colaboración.

Al MSc. Rubén Bazán, a la señora Rosmary Arteaga, a Rosita Menezes y a todos los colaboradores del Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes, por su valioso apoyo y por su amistad.

A mi querida alma mater la UNALM por ser espacio de buenos y gratos momentos y a mis profesores quienes con sus enseñanzas contribuyeron en mi formación profesional.

A todos ustedes mi mayor reconocimiento y gratitud.

# ÍNDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
2.1 Estiércol vacuno	5
2.2 Tratamientos de estiércol vacuno para reducción de la salinidad	7
a. Lavado	7
b. Aplicación con zeolita	8
c. Aplicación de microorganismos eficaces	9
2.3 Compostaje	10
2.3.1 Métodos rápidos de compostaje	11
2.4 Microorganismos benéficos (MB)	13
a. Microorganismos eficientes (EM)	14
b. <i>Bacillus</i> spp	15
2.5 Microorganismos benéficos en el tratamiento de excretas de animales	17
2.6 Biología de la lombriz roja de californiana ( <i>Eisenia foetida</i> )	18
2.6.1 Taxonomía y características anatómicas	18
a. Clasificación taxonómica	18
b. Anatomía externa	19
c. Anatomía interna	20
2.6.2 Sistema circulatorio	20
2.6.3 Sistema respiratorio	20
2.6.4 Sistema excretor	21
2.6.5 Sistema nervioso	23
2.6.6 Sistema digestivo	24
a. Capacidad digestiva de la lombriz	24
b. Glándulas calcíferas	24
2.6.7 Sistema reproductor y proceso de reproducción	26
a. Eclosión de las ootecas de la lombriz	28
b. Temperatura óptima para el desarrollo de los cocones	28
c. Tamaño y color de los cocones	28

d. Tamaño y color de las lombrices juveniles _____	29
2.7 Vermicompostaje _____	29
2.7.1 Vermicompost o humus de lombriz _____	31
2.7.2 Sistemas de vermicompostaje _____	33
a. Vermicompostaje tradicional _____	33
b. Vermicompostaje con alimentación continua _____	34
c. Vermicompostaje en invernadero solar pasivo (PSGH) _____	34
d. Vermicompostaje de techo a dos aguas _____	36
2.7.3 Características requeridas para el proceso de vermicompostaje _____	36
a. Residuos orgánicos como fuente para vermicompostaje _____	37
b. Interrelación microorganismos-lombrices _____	38
2.8 Control biológico de enfermedades en las plantas _____	43
a. Incremento de la actividad enzimática _____	43
b. Acción como bioindicadores _____	44
2.9 Vermicompost en el cultivo del rábano _____	44
a. <i>Raphanus sativus</i> _____	44
b. Cultivo del <i>Raphanus sativus</i> L. _____	45
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS _____</b>	<b>47</b>
3.1 Zona de estudio _____	47
3.2 Fase experimental I: Pretratamiento _____	48
3.2.1 Preparación y caracterización de materia prima para el pretratamiento _____	48
3.2.2 Propagación y caracterización biológica del consorcio de microorganismos empleados en el pretratamiento _____	49
3.2.3 Caracterización del agua de riego _____	51
3.2.4 Pretratamiento _____	52
a. Pretratamiento: (TA) excreta lavada sin inoculación de microorganismos benéficos. _____	52
b. Pretratamiento: (TB) excreta sin lavado con inoculación de microorganismos benéficos. _____	52
3.2.5 Medición de variables durante el pretratamiento _____	52
3.2.6 Fase experimental I: Compostaje _____	53
a. Compostaje Tratamiento (TA) _____	53
b. Compostaje Tratamiento (TB) _____	53

3.2.7 Medición de las variables durante y después del proceso de compostaje de TA y TB _____	53
3.3 Fase experimental II: estimación del efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre su crecimiento, desarrollo y las características fisicoquímicas y biológicas del vermicompost enriquecido _____	54
3.3.1 Producción de inóculo para el proceso de vermicompostaje _____	54
a. Recuento de <i>Bacillus</i> sp., UFC mL <sup>-1</sup> en solución inoculante empleada en el vermicompostaje _____	55
b. Inoculación de <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos a nivel laboratorio y escala piloto _____	55
3.3.2 Sustrato empleado a nivel de laboratorio y escala piloto _____	55
3.3.3 Instalación de camas a nivel de laboratorio y a escala piloto para proceso de vermicompostaje _____	55
3.3.4 Organismos empleados en la experimentación en laboratorio y a escala piloto _____	57
a. Pie de cría e inoculación de lombrices _____	57
b. Alimentación de lombrices _____	58
3.3.5 Estimación de densidad poblacional de lombrices al final de la experimentación a nivel de laboratorio y escala piloto. _____	58
a. Densidad poblacional a nivel de laboratorio _____	58
b. Densidad poblacional a escala piloto _____	58
3.3.6 Cosecha de vermicompost _____	59
3.3.7 Determinación de variables químicas durante el proceso de vermicompostaje _____	59
3.3.8 Determinación de características biológicas: determinación de UFC g <sup>-1</sup> de vermicompost _____	60
a. Recuento de <i>Bacillus</i> _____	60
b. Recuento de <i>Lactobacillus</i> _____	60
c. Recuento de <i>Pseudomonas</i> _____	61
d. Recuento de actinomicetos _____	61
e. Recuento de bacterias _____	61
f. Recuento de hongos _____	62
g. Observación macroscópica de microorganismos presentes en el vermicompost. _____	64
3.4 Fase experimental III: evaluación de la calidad del producto final vermicompost en invernadero y laboratorio _____	64

3.4.1 Incidencia del vermicompost obtenido sobre el cultivo del <i>Raphanus sativus</i> L.	
a nivel de invernadero _____	64
a. Altura de <i>Raphanus sativus</i> L. _____	66
b. Dimensiones del hipocotílo después de la cosecha _____	66
c. Peso fresco y seco hipocotílo de <i>Raphanus sativus</i> L. _____	67
d. Peso fresco de hojas del <i>Raphanus sativus</i> L. _____	67
3.4.2 Cualificación de la acción supresiva del vermicompost contra hongos patógenos empleando manzana ( <i>Malus domestica</i> ) a nivel laboratorio _____	67
3.4.3 Evaluación de la acción antagónica del té de vermicompost contra <i>Fusarium</i> sp. en laboratorio _____	69
3.4.4 Diseño experimental _____	70
3.4.5 Análisis estadístico _____	72
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____</b>	<b>76</b>
4.1 Fase experimental I: evaluación del efecto de pretratamiento y compostaje sobre las características fisicoquímicas y biológicas del estiércol de vacuno _____	76
a. Caracterización fisicoquímica y biológica de la excreta de vacuno empleada en el proceso de pretratamiento _____	76
b. Caracterización microbiológica del consorcio de microorganismos benéficos _____	78
c. Caracterización físico química del agua empleada en la experimentación _____	79
4.1.1 Pretratamiento: evaluación del efecto de lavado e incorporación de microorganismos benéficos sobre las características fisicoquímicas del estiércol vacuno _____	80
a. Evaluación de la conductividad eléctrica aplicando: lavado de sales y microorganismos benéficos _____	80
b. Evaluación de la relación C/N en el pretratamiento _____	82
c. Evaluación de la temperatura durante el pretratamiento _____	83
d. Evaluación del potencial de iones hidrogeno (pH) en el pretratamiento _____	84
4.1.2 Compostaje: evaluación del efecto de compostaje sobre las características fisicoquímicas y biológicas del estiércol vacuno pretratado. _____	86
a. Evaluación de la temperatura durante el compostaje _____	86
b. Evaluación de la conductividad eléctrica durante el compostaje _____	90
c. Evaluación de la relación C/N durante el compostaje _____	92
d. Evaluación del pH durante el compostaje _____	94

4.1.3 Comparación de la caracterización fisicoquímica y biológica de los compost resultantes _____	96
4.2 Fase experimental II: estimación del efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre su crecimiento, desarrollo y las características fisicoquímicas y biológicas del vermicompost enriquecido _____	101
a. Evaluación del número de cocones a nivel de laboratorio _____	101
b. Evaluación estamentos poblacionales a nivel de laboratorio _____	105
c. Evaluación de la densidad nominal de lombrices en las unidades experimentales a nivel de laboratorio. _____	109
d. Determinación de ácidos húmicos, fúlvicos y huminas a nivel de laboratorio. _____	110
4.2.1 Respuesta de variables: efecto de interrelación de <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos con <i>Eisenia foetida</i> sobre su crecimiento y desarrollo a escala piloto _____	112
a. Evaluación del número de cocones a escala piloto _____	112
b. Evaluación número de lombrices juveniles, subadultas y adultas a escala piloto _____	116
c. Evaluación de la densidad nominal y efectiva a escala piloto _____	119
d. Evaluación del peso promedio de las lombrices a escala piloto (lombrices adultas) _____	123
4.2.2 Efecto de los sistemas tradicional en zanja y techo a dos aguas sobre las características físicoquímicas del vermicompost enriquecido a escala piloto _____	126
a. Evaluación final de la conductividad eléctrica, pH y porcentaje de humedad en el vermicompost obtenido a escala piloto _____	126
b. Evaluación final porcentaje de materia orgánica (% MO) y relación C/N en los vermicompost obtenido a escala piloto _____	132
c. Evaluación final del contenido de elementos en los vermicompostes obtenidos a escala piloto _____	137
d. Evaluación final del porcentaje de ácidos fúlvicos, húmicos y huminas en losvermicompost obtenidos a escala piloto _____	145
4.2.3 Efecto de los sistemas tradicional en zanja y techo a dos aguas sobre las características biológicas del vermicompost enriquecido a escala piloto _____	148

a. Unidades formadoras de colonias de <i>Bacillus</i> sp., cuantificadas en los vermicomposts producido en el sistema tradicional y techo a dos aguas a escala piloto _____	149
b. Unidades formadoras de colonias de microorganismos cuantificados en los vermicompost producidos en el sistema tradicional y techo a dos aguas a escala piloto _____	152
4.3 Fase experimental III: evaluación del vermicompost en invernadero y laboratorio _____	159
4.3.1 Efecto del vermicompost sobre el crecimiento y desarrollo de <i>Raphanus sativus</i> L. en invernadero _____	159
a. Altura de las plantas a los 15, 30 y 45 días de siembra _____	159
b. Diámetro polar y ecuatorial de hipocótilos _____	164
c. Producción de biomasa _____	167
4.3.2 Evaluación de acción supresiva del vermicompost en laboratorio _____	171
4.3.3 Evaluación de antagonismo de microorganismos benéficos presentes en el vermicompost ante <i>Fusarium</i> sp. en laboratorio _____	174
<b>V. CONCLUSIONES _____</b>	<b>177</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES _____</b>	<b>179</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____</b>	<b>180</b>
<b>VIII. ANEXOS _____</b>	<b>205</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características porcentuales por compuestos en el estiércol vacuno.....	6
Cuadro 2. Formulación nutricional de alimentación para ganado vacuno .....	6
Cuadro 3. Análisis microbiológico de excretas frescas de ganado de establo lechero7	
Cuadro 4. Composición de los microorganismos eficientes EM® .....	14
Cuadro 5. Principales características de <i>Eisenia foetida</i> .....	19
Cuadro 6. Producción por número de quintales (445,35 kg) semestral de vermicompost en lechos modulares (2x1m).....	32
Cuadro 7. Estimado de la reproducción semanal de <i>Eisenia foetida</i> .....	37
Cuadro 8. Bioconversión de residuos de estiércol vacuno, residuos domésticos y de jardín empleando <i>Eisenia foetida</i> .....	38
Cuadro 9. Contenido de microorganismos registrados en el intestino de <i>Eisenia foetida</i> y en el suelo .....	42
Cuadro 10. Uso del vermicompost en horticultura del <i>Raphanus sativus</i> L .....	46
Cuadro 11. Insumos para la activación de microorganismos benéficos.....	50
Cuadro 12. Reactivos para preparación de Agar Sabouraud .....	51
Cuadro 13. Volumen inoculado en la experimentación en los tratamientos de vermicompostaje.....	55
Cuadro 14. Medios de cultivo para microorganismos .....	60
Cuadro 15. Reactivos para preparación de 1 litro de medio de bacterias.....	61
Cuadro 16. Reactivos para preparación de 1 L de medio de cultivo Martin .....	62
Cuadro 17. Descripción de los tratamientos empleados a nivel de laboratorio, escala piloto e invernadero .....	70
Cuadro 18. Caracterización de excreta de vacuno antes del tratamiento .....	76
Cuadro 19. Análisis microbiológico del consorcio .....	78
Cuadro 20. Análisis fisicoquímico del agua de riego .....	79
Cuadro 21. Comparación de parámetros antes y después de su tratamiento.....	97
Cuadro 22. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre el número de cocones obtenidos en el sistema en zanja y techo a dos aguas a nivel de laboratorio .....	102

Cuadro 23. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre el número total de lombrices juveniles, subadultas y adultas cuantificado en el sistema en zanja y techo a dos aguas a nivel de laboratorio .....	105
Cuadro 24. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre la población nominal en el sistema en zanja y techo a dos aguas a nivel de laboratorio .....	109
Cuadro 25. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre los porcentajes de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas evaluados en las unidades experimentales de vermicompost a nivel de laboratorio .....	111
Cuadro 26. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre el número de cocones obtenidos en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto .....	113
Cuadro 27. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre el número total de lombrices juveniles, subadults y adultas obtenido en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto .....	117
Cuadro 28. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre la población nominal y efectiva en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto .....	120
Cuadro 29. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre peso a escala piloto .....	124
Cuadro 30. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre CE, pH y porcentaje de humedad de los vermicompost obtenidos en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto .....	127
Cuadro 31. Efecto de interrelación de <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos con <i>Eisenia foetida</i> sobre porcentaje de materia orgánica y relación C/N de los vermicompost obtenidos en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto .....	133
Cuadro 32. Efecto de interrelación de <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos con <i>Eisenia foetida</i> sobre contenido de elementos en cada unidad experimental del sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto .....	138

Cuadro 33. Comparación de medias por la prueba LSD de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ) para los distintos porcentajes de elementos resultantes en la interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre el vermicompost en cada una de las unidades experimentales en zanja y techo a dos aguas .	141
Cuadro 34. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre los porcentajes de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas evaluados en las unidades experimentales antes y después del proceso de vermicompostaje a escala piloto.....	145
Cuadro 35. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre las UFC de <i>Bacillus</i> sp., cuantificadas en los vermicompost obtenidos a escala piloto .....	149
Cuadro 36. Efecto de interrelación de <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos con <i>Eisenia foetida</i> UFC de bacterias, hongos, actinomicetos, <i>Lactobacillus</i> sp, <i>Pseudomonas</i> sp., el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto	152
Cuadro 37. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para altura de plantas a los 15 días, 30 y 45 días después de siembra del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.) .....	159
Cuadro 38. Medias de cuadrados mínimos para el efecto de interacción tipo de compost *inóculo a los 30 días después de siembra del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.) .....	161
Cuadro 39. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para altura de plantas a los 15 días, 30 y 45 días después de siembra del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.) .....	162
Cuadro 40. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para diámetros de hipocótilos después de la cosecha del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.) .....	164
Cuadro 41. Medias de cuadrados mínimos para el efecto de interacción tipo de compost *inóculo en el diámetro ecuatorial y polar después de siembra del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.) .....	165
Cuadro 42. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para diámetros de hipocótilos a los 45 días de cosecha del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.) .....	166
Cuadro 43. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para peso de biomasa del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.).....	168

Cuadro 44. Medias de cuadrados mínimos para el efecto de interacción tipo de compost, inóculo y sistema bajo el cual se obtuvo el vermicompost para peso de hipocotílo de rabanito fresco ( <i>Raphanus sativus</i> L.).....	168
Cuadro 45. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, biomasa fresca (hojas y tallos), hipocólitos secos y frescos del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.) .....	170
Cuadro 46. Determinación cualitativa del nivel de supresión que presentan los vermicompost .....	172
Cuadro 47. Determinación cualitativa del nivel de antagonismo que presentan los vermicompost .....	174

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Temperatura, Oxígeno, pH en el proceso de compostaje.....	11
Figura 2. Esquema que resume el posible funcionamiento de los nefridios de los Oligoquetos, basado en <i>Lumbricus</i> .....	22
Figura 3. Sección transversal de las glándulas calcíferas mostrando sus estructuras	25
Figura 4. Transferencia directa del espermatozoide desde los poros masculinos, a través de penes, al interior de las espermatecas .....	26
Figura 5. Ciclo biológico de <i>Eisenia foetida</i> .....	27
Figura 6. Ciclo biológico de <i>Eisenia foetida</i> (dieta: estiércol vacuno y conejo). Temperatura 25 °C y una humedad relativa de 80 por ciento.....	27
Figura 7. Sistemas tradicionales: (a) litera (b) contenedores. Sistema de alimentación continua: (c) verticales y circulares modulares (d) mecanizados. Sistema invernadero (e) túnel alto o invernadero solar .....	35
Figura 8. Estructura de camas de compostaje "techo a dos aguas" .....	36
Figura 9. Composición de las comunidades bacterianas (porcentaje de <i>phylum</i> ) en los estiércoles de (caballo, vaca y de cerdo) antes y después de ser digeridos por la lombriz <i>Eisenia andrei</i> .....	41
Figura 10. Vista panorámica del Centro Modelo de Tratamiento de Residuos (CEMTRAR) .....	47
Figura 11. Capa blanca marrón cremosa evidencia la propagación de la comunidad microbiana benéfica que conforma el consorcio madre .....	50
Figura 12. Desarrollo de colonias de levaduras en el consorcio de microorganismos benéficos .....	51
Figura 13. a) Riego controlado empleando manga aspersora. b) Riego convencional .....	52
Figura 14. Estructuras a) nivel de laboratorio. b) escala piloto.....	56
Figura 15. Estructuras a nivel de laboratorio: (a) sistema techo a dos aguas (b) sistema en zanja. Estructuras a escala piloto (c y d) sistema techo a dos aguas; de 1m x 1m x 45 cm sobre la superficie cubierta con plástico (e y f) Sistema tradicional en zanja de 1 m x 1 m x 35 cm de profundidad cubierta con plástico.....	57

Figura 16. Desarrollo de colonias (a) <i>Bacillus</i> sp., (b) <i>Lactobacillus</i> sp., (c) <i>Pseudomonas</i> sp., (d) actinomicetos (e) bacterias (f) hongos en muestra de vermicompost obtenido después de 40 días.....	63
Figura 17. Observación microscópica de muestras: (a) de <i>Lactobacillus</i> sp., (b) <i>Pseudomonas</i> sp., en muestras de vermicompost producido a escala piloto.	64
Figura 18. (a) Tablero de control del horno de esterilización de arena (b) Pesaje de sustrato (c) Macetas con sustrato para experimentación en invernadero .....	65
Figura 19. Control de húmeda empleando el equipo TDR 100 en el modelo biológico <i>Raphanus sativus</i> L.....	65
Figura 20. (a) Brote de hojas del <i>Raphanus sativus</i> L. (b) Desahíje de plántulas y (c) Registro de altura de plantas.....	66
Figura 21. <i>Raphanus sativus</i> L. (a) diámetro polar (b) diámetro ecuatorial.....	66
Figura 22. Ensayo para determinación cualitativa de la acción supresiva del vermicompost obtenido en las unidades experimentales.....	67
Figura 23. Niveles supresivos del vermicompost ante hongos patógenos (a) Ninguno, (b) Bajo, (c) Medio, Alto (d). .....	69
Figura 24. (a) Ausencia de antagonismo muestra TLT ante <i>Fusarium</i> sp. (b) Bajo nivel de antagonismo de la muestra LMZ ante <i>Fusarium</i> sp., (c) nivel medio de antagonismo de la muestra LBZ ante <i>Fusarium</i> sp., (d) Alto nivel de antagonismo de la muestra MMZ ante <i>Fusarium</i> sp. ....	70
Figura 25. Diseño y dimensiones de las unidades experimentales en los sistemas en zanja y techo a dos aguas para la producción de vermicompost a escala piloto .....	71
Figura 26. En base a los valores de los predichos y residuales: Diagnóstico de la variable pH al final del proceso de vermicompostaje para la producción de humus a) Homogeneidad de la variable b) Distribución de la variable.....	73
Figura 27. Variación de la conductividad eléctrica durante el pretratamiento.....	80
Figura 28. Variación semanal de relación C/N durante el pretratamiento .....	82
Figura 29. Variación de la temperatura durante el pretratamiento .....	84
Figura 30. Variación semanal del pH en TA y TB en el pretratamiento.....	85
Figura 31. Variación de la temperatura durante el proceso de compostaje.....	87
Figura 32. Variación de la conductividad eléctrica durante el proceso de compostaje .....	91
Figura 33. Variación semanal de relación C/N durante el proceso de compostaje ...	93

Figura 34. Variación semanal del pH en TA y TB durante el proceso de compostaje .....	95
Figura 35. Efecto de la interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre el número de cocones eclosionados y sin eclosionar con sus respectivos niveles de significancia pertenecientes a su número total cuantificado a nivel de laboratorio .....	103
Figura 36. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre el número total de lombrices con sus respectivos niveles de significancia a nivel de laboratorio.....	106
Figura 37. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre estamentos poblacionales para determinación de densidad poblacional nominal con sus respectivos niveles de significancia a nivel de laboratorio .....	110
Figura 38. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre los porcentajes de ácidos húmicos, fúlvicos presentes en el compost y en el producto final vermicompost a nivel de laboratorio.....	111
Figura 39. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre número de cocones eclosionados y sin eclosionar cuantificado a escala piloto .....	113
Figura 40. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre número total de lombrices con sus respectivos niveles de significancia a escala piloto .....	117
Figura 41. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre determinación de densidad nominal y efectiva de <i>Eisenia foetida</i> a escala piloto .....	120
Figura 42. Comparación de medias usando la prueba LSD de Fisher ( $\alpha= 0,05$ ) para peso de lombriz roja de californiana a escala piloto.....	124
Figura 43. Efecto de interrelación de <i>Eisenia foetida</i> con <i>Bacillus</i> sp., y microorganismos benéficos sobre variación de la conductividad eléctrica, pH y porcentaje de humedad al final del proceso de vermicompostaje en cada una de las unidades experimentales en zanja y techo a dos aguas .....	130

Figura 44. Variación del porcentaje de materia orgánica y relación C/N al final del proceso de vermicompostaje en las unidades experimentales en zanja y techo a dos aguas.....	134
Figura 45. Variación de los porcentajes de ácidos húmicos, fúlvicos presentes en el compost y en el producto final vermicompost a escala piloto.....	146
Figura 46. Comparación de UFC de <i>Bacillus</i> sp., en el vermicompost obtenido a escala piloto .....	150
Figura 47. Comparación de UFC de bacterias, hongos, actinomicetos, <i>Lactobacillus</i> sp., y <i>Pseudomonas</i> sp., en el vermicompost obtenido a escala piloto.....	153
Figura 48. Comparación de medias con sus respectivos niveles de significancia usando la prueba de ANOVA para altura de plantas a los 15 días, 30 y 45 días después de siembra del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.) .....	163
Figura 49. Comparación de medias con sus respectivos niveles de significancia usando la prueba de ANOVA para diámetros de hipocótilos a los 45 días de cosecha del rabanito ( <i>Raphanus sativus</i> L.) .....	166
Figura 50. Comparación de medias con sus respectivos niveles de significancia usando la prueba de ANOVA para peso de biomasa fresca de tallos y hojas, peso fresco y seco de <i>Raphanus Sativus</i> L .....	169

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Análisis de estiércol de vacuno. ....	205
ANEXO 2. Determinación de enumeración de <i>Escherichia coli</i> NMP/g y detección de <i>Salmonella</i> sp en 25 g. ....	206
ANEXO 3. Caracterización microbiológica del consorcio empleado para el proceso de compostaje y vermicompostaje.....	207
ANEXO 4. Análisis de agua de riego.....	208
ANEXO 5. Determinación físicoquímica en el tratamiento TA .....	209
ANEXO 6. Determinación físicoquímica en el tratamiento TB.....	210
ANEXO 7. Determinación de enumeración de <i>Escherichia coli</i> NMP/g y detección de <i>Salmonella</i> sp en 25 g en el producto final compost tratamiento TA (compost prelavado) .....	211
ANEXO 8. Determinación de enumeración de <i>Escherichia coli</i> NMP/g y detección de <i>Salmonella</i> sp en 25 g en el producto final compost tratamiento TB (compost inoculado con MB) .....	212
ANEXO 9. Determinación de cationes P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , K <sub>2</sub> O, Ca, MgO, Na .....	213
ANEXO 10. Determinación de Ácidos húmicos, fulvicos y huminas en los compost obtenidos en los tratamientos TA (prelavado) y TB (inoculado) .....	215
ANEXO 11. Determinación de Ácidos húmicos, fúlvicos y huminas en los productos finales de las unidades experimentales .....	216
ANEXO 12. Análisis de variancia del crecimiento de las plantas de <i>Raphanus Sativus</i> L los 15 días. ....	217
ANEXO 13. Análisis de variancia del crecimiento de las plantas de <i>Raphanus Sativus</i> L a los 30 días. ....	217
ANEXO 14. Análisis de variancia del crecimiento de las plantas <i>Raphanus Sativus</i> L a los 45 días. ....	217
ANEXO 15. Análisis de variancia del diámetro ecuatorial de <i>Raphanus Sativus</i> L . .....	218
ANEXO 16. Análisis de variancia del diámetro polar de <i>Raphanus Sativus</i> L.....	218
ANEXO 17. Análisis de variancia del peso de biomasa (tallos y hojas) de <i>Raphanus Sativus</i> L. ....	218

ANEXO 18. Análisis de variancia del peso fresco de hipocotílo de *Raphanus Sativus*

L..... 219

ANEXO 19. Análisis de variancia del peso seco de hipocotílo de *Raphanus Sativus*

L..... 219

## RESUMEN

En los sistemas de producción animal se generan grandes cantidades de excretas, las cuales no suelen ser reaprovechadas adecuadamente, propiciando gran cantidad de nutrientes desechados e impactos ambientales. El objetivo de la investigación fue evaluar el pretratamiento de la excreta de vacuno sobre sus características fisicoquímicas y biológicas para la obtención de un sustrato apto para *Eisenia foetida*, en el cual a través de su interrelación con microorganismos benéficos (MB) inoculados, permita estimar el crecimiento y desarrollo de los estamentos poblacionales junto a sus características fisicoquímicas y biológicas y evaluar el potencial supresivo del vermicompost ante hongos patógenos y su respuesta en la producción del rabanito (*Raphanus sativus* L). En la fase I, se trabajó con dos pretratamientos en 3 t de excreta pura de vacuno durante 42 días. Tras aplicar 12 m<sup>3</sup> y 6 m<sup>3</sup> de agua semanalmente a cada tratamiento, la CE disminuyó de 11,92 a 5,59 dS m<sup>-1</sup> (prelavado) y a 9,86 dS m<sup>-1</sup> (inoculado con MB). En el compostaje al disminuir el volumen en 6m<sup>3</sup> semanales, se logró su reducción del 51,4 y 58 %. El inóculo junto a un menor volumen de agua empleado contribuyó con la solubilización de los cationes salinos. En la Fase II, en el proceso de vermicompostaje se evaluaron 12 tratamientos con 3 repeticiones en sistemas zanja y techo a dos aguas a nivel de laboratorio (60 días) y escala piloto (40 días), inoculando al compost MB y *Bacillus* sp., para evaluar el efecto de la interrelación con los microorganismos inoculados sobre reproducción y densidad poblacional de *Eisenia foetida*. El tratamiento MMZ (compost más inóculo MB en Zanja) registró mayor cantidad de estamentos poblacionales tanto en laboratorio como a escala piloto. Los vermicompostes procedentes del sistema en zanja e inoculados con MB presentaron alta carga microbiana, mayor descenso en salinidad, pH, disminución en la relación C/N, porcentajes de P, K, Na, así como un mayor incremento en porcentajes de Ca, Mg y compuestos húmicos. La relación C/N 10 indicó la estabilización del vermicompost. La calidad del vermicompost fue probada en invernadero empleando el *Raphanus sativus* L. El tratamiento MZM alcanzó mayor altura y peso fresco de hojas, mayor diámetro y peso de hipocótilo. Finalmente, en la Fase III se evidenció la capacidad supresora de los vermicompost ante *Fusarium* sp.

**Palabras claves:** excreta de vacuno, consorcio microbiano, vermicompost, *Eisenia foetida*

## ABSTRACT

Animal production systems generate large amounts of excreta, which are not adequately reused, causing a large amount of waste nutrients and environmental impacts. Pretreatment, composting and vermicomposting along with the microbial inoculation technique constitute a more promising option in recognition of the need to manage agricultural biological waste. The investigation was carried out in three stages. (I) First: Two pretreatment were tested under field conditions 42 days in order to reduce electrical conductivity (EC) and evaluate the microbial enrichment effectiveness in comparison with traditional salt washing method of livestock using benefit microorganism and 12 and 6 m<sup>3</sup> of water weekly. EC reduced from 11,92 to 5,59 y 9,86 dS m<sup>-1</sup>. After that composted and irrigated 6m<sup>3</sup> weekly, it decreased beteewn 51,4 and 58%. Microbial inoculation contributed with the degradation and solubilization of the cations optimizing its reduction and avoiding the excessive use of water. Likewise, the C/N ratio decreased from 22. (II) Second: using 12 treatments and 3 repetitions, the vermicomposting was developed under two production system superficial “gable roof” and underground “pit system” by adding beneficial microorganisms and *Bacillus* sp., under laboratory and field conditions in order to evaluate *Eisenia foetida* interrelation with the inoculated microorganisms. the development, reproduction and population density. High performance was found in the inoculated treatments MMP (compost Mob's inoculum Mob's pit system) both of them laboratory and field. MMP recorded a greater number of juvenile, subadult, adult and coconuts worms. The vermicomposts from the pit system and inoculated with beneficial microorganisms presented high microbial load, greater decrease in salinity, pH, C/N ratio, P, K, Na and greater increase in Ca, Mg and humic substances. The C/N 10 ratio indicated the stabilization of the vermicompost. (III) Third: Quality of the vermicompost was tested at the greenhouse level using the *Raphanus sativus* L. The MMP treatment achieved greater height and fresh leaf weight, greater diameter and hipocotilo’s weight. The suppressive capacity of vermicomposts against *Fusarium* sp.

**Key words:** livestock manure predecomposed, beneficial consortium, vermicompost, *Eisenia foetida*.

## I. INTRODUCCIÓN

El constante crecimiento demográfico ha incrementado la demanda mundial del consumo de carne de vacuno. Durante los próximos 10 años, se prevé para el 2028, el consumo de carne aumentará alrededor del seis por ciento en los países desarrollados, mientras que en las regiones en desarrollo, probablemente se incrementará al 17 % (OCDE-FAO, 2017). Conjuntamente a esta intensificación de consumo ha aumentado la generación de residuos de origen agropecuario, cuya inadecuada gestión puede provocar graves problemas ambientales: contaminación del aire, del agua superficial y del suelo (Wang *et al.*, 2015).

Una alternativa potencial de mitigación ante este problema es la transformación del estiércol vacuno previo compostaje, en vermicompost, un abono ecológico de gran calidad que garantiza la recuperación y a la vez el reciclaje de sus nutrientes en cada una de las deyecciones de las lombrices (Lim *et al.*, 2016). Estos organismos podrían ofrecer alivio a muchos problemas ambientales ante la generación de miles de toneladas de estiércol, alta demanda biológica de oxígeno (DBO), pérdida de nutrientes, salinidad, elevado pH, entre otros, que son difíciles de remediar (Mitchell, 1997).

Compagnoni y Putzolu (2001) indican que el uso del vermicompost como abono exclusivo sería el único camino para salvar la agricultura moderna del impase tecnológico en que se halla a consecuencia de la irreflexiva tendencia a la quimificación. Sin embargo, en la actualidad sería absurdo ignorar la importancia del concepto de integración en el abono global, pero también es evidente la necesidad de recurrir al abonado mineral para ajustar la aportación de nutrientes a las exigencias de los cultivos. De acuerdo a la FAO (2015), un impacto probable en el futuro será la escasez de fertilizantes ante la creciente demanda. Se proyecta que el consumo total de fertilizantes como N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O alcance de 186, 9 millones en 2014 a 200, 5 millones de toneladas a finales de 2018. No obstante, se debe tener presente que el vermicompost contiene gran cantidad de nutrientes disponibles para la planta como nitrógeno (N), potasio (K) y magnesio (Mg) solubles, así como

también fósforo (P) y calcio (Ca) intercambiables que podrían ser empleadas ante esta posible demanda, de una manera menos agresiva y amigable con el medio ambiente (Am Euras, 2009). Las investigaciones recientes han demostrado el potencial efecto supresor del vermicompost contra microorganismos patógenos, insectos, ácaros y parásitos de plantas, característica que es generada por la gran diversidad microbiana que presenta (Domínguez *et al.*, 2010). La recuperación, reutilización y la transformación de los residuos en insumos útiles como una opción a la problemática ambiental de cada sector es una necesidad, por lo que las alternativas seleccionadas, deben ser adecuadas técnicamente a las características locales, viables económicamente y sustentables ecológicamente.

Pinos *et al.* (2012) denuncian que los gobiernos, principalmente de los países industrializados y algunos en desarrollo, deben establecer regulaciones sobre el uso, manejo y tratamiento de residuos biológicos agropecuarios. El Perú promueve la reducción de la contaminación ambiental y el crecimiento sostenible mediante el desarrollo de estrategias que conduzcan a remediar este problema ambiental, una de estas es el cumplimiento de la legislación ambiental como lo señala el artículo N° 28 del Capítulo VI del Decreto Supremo N° 016-2012-AG, el cual describe que el manejo y almacenaje de estiércoles bajo el concepto de buenas prácticas agrarias (MINAG, 2012).

Se debe tener en cuenta que un análisis de sustentabilidad requiere de un conocimiento detallado de las interrelaciones que se presentan entre los microorganismos dentro de la compleja comunidad microbiana natural que habita ese microambiente. Teniendo presente que la fertilidad del suelo no sólo depende de su composición química, sino también de la naturaleza cuantitativa y cualitativa del tipo de microorganismos que se encuentran presentes en el hábitat (Pedraza *et al.*, 2010).

Los microorganismos benéficos (MB) contribuyen produciendo enzimas extracelulares que permiten la descomposición de polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos, estos compuestos hacen que la lombriz optimice la degradación de la materia orgánica compleja durante su paso por su tracto intestinal mejorando a la vez su capacidad de asimilación de nutrientes y por ende generando un producto con características enriquecidas (Hoa *et al.*, 2001).

Davis *et al.* (2008) indican que en los consorcios microbianos, se encuentran presentes las especies de microorganismo ideales que actúan como reductores de salinidad, aditivos

nutricionales debido a su estabilidad y a su capacidad para producir una variedad de enzimas que favorecen la digestión de los estiércoles por parte de las lombrices.

En los últimos 10 años, el uso de microorganismos eficientes y el vermicompostaje, se han tornando atractivas por la baja inversión y costos que se requieren para su implementación. A la vez pueden ser empleadas en trabajos conjuntos en distintos terrenos como en distintas localidades ya sea por su disposición y altitud, debido a que no se requieren grandes estructuras fijas. Otro aspecto importante en la producción de vermicompost es el tiempo en el que las lombrices lo producen puesto que al emplear inóculos microbianos estos aceleran su producción y mejoran su calidad brindándole características supresoras, así como también mejoran el desarrollo de la lombriz (Das *et al.*, 2016).

Esto podría resultar beneficioso desde el punto de vista de la rentabilidad productiva no solo en el Perú, sino también en otros países donde existen comunidades que se dedican a actividades agropecuarias y que podrían reaprovechar sus residuos empleándolos dentro de sus cultivos de una manera rentable. Igualmente se ha demostrado que el vermicompostaje puede ser acelerado empleando esta técnica de enriquecimiento microbiano, a partir de esta combinación se obtiene un producto final enriquecido que presenta múltiples cualidades influyendo consecuentemente en el crecimiento de las plantas, que incluye la fijación de nitrógeno, absorción de nutrientes principales, control o supresión de enfermedades entre otros múltiples beneficios (Gupta, 2012).

En la presente investigación se propone optimizar el proceso de compostaje a partir del pretratamiento de estiércol de vacuno puro obteniendo un sustrato compostado que bajo dos diferentes sistemas de vermicompostaje (zanja y techo a dos aguas) con inoculación microbiana de *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos incrementará el crecimiento y desarrollo de los estamentos poblacionales de la lombriz roja californiana generando un humus supresivo enriquecido en menor tiempo (40 días) que mejorará el desarrollo del rabanito (*Raphanus sativus*) en invernadero.

El objetivo general de la investigación fue evaluar el pretratamiento de la excreta de vacuno para la obtención de un sustrato apto para *Eisenia foetida*, en el cual a través de su interrelación con microorganismos benéficos inoculados, permita estimar el crecimiento y desarrollo de los estamentos poblacionales junto a sus características fisicoquímicas y

biológicas, a la vez evaluar el potencial supresivo del vermicompost ante hongos patógenos y su respuesta en la producción del rabanito (*Raphanus sativus* L).

Los objetivos específicos fueron:

-Evaluar el efecto del lavado e incorporación de microorganismos benéficos sobre las características fisicoquímicas y biológicas del estiércol vacuno pretratado y compostado a nivel de campo.

-Estimar el efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre el desarrollo de sus estamentos poblacionales y reproducción bajo dos sistemas de vermicompostaje a nivel de laboratorio y escala piloto

-Evaluar el efecto de los sistemas tradicional en zanja y techo a dos aguas sobre las características físicoquímicas y biológicas del vermicompost enriquecido producido a escala piloto.

-Valorar la acción supresiva del vermicompost enriquecido contra hongos patógenos y antagonista ante *Fusarium* sp., a nivel de laboratorio y su incidencia sobre el cultivo de *Raphanus sativus* L. en invernadero

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 Estiércol vacuno**

Los rumiantes son mamíferos herbívoros que poseen un estómago especial en cuyo interior se lleva a cabo la digestión de celulosa y otros polisacáridos mediante la actividad microbiana, ya que estos animales carecen de las enzimas necesarias para digerirlos. El rumen es un gran saco anóxico en cuyo interior grandes poblaciones de bacterias y arqueas convierten los complejos materiales vegetales ingeridos por el ganado en ácidos grasos de bajo peso molecular, dióxido de carbono y metano. Los ácidos orgánicos de bajo peso molecular, especialmente el acetato, satisfacen las necesidades nutritivas del animal. El dióxido de carbono y el metano producidos por la fermentación de los metánogenos se eliminan como procesos residuales sin que contribuyan a la nutrición del animal (Atlas y Bartha, 2008).

Iglesias (1995) indica que una vaca adulta de 550 kg de peso vivo que produce 4000 L de leche, genera una cantidad de estiércol al año que contiene: 90 kg de nitrógeno, 18 kg de fósforo y 83 kg de potasio, con una eficiencia de utilización del 60 por 100 para el nitrógeno y del 100 por 100 para el fósforo y potasio. Si se toman estos valores como estándar, se pueden determinar las producciones de los distintos nutrientes para los estiércoles de las diferentes especies y grupos de animales.

En el Cuadro 1, se hace una comparación de la composición porcentual de cada uno de los componentes identificados en excreta fresca y seca. Carrión (2005) indica que todo lo eliminado por el animal a través de las excretas representan pérdidas nutricionales ya sea por la falta de digestibilidad o por excesos de nutrientes suministrados al animal. Razón por la cual la formulación alimenticia debe estar cada vez más ajustada a los requerimientos reales del nivel productivo y debe tener una consideración ecológica de la cantidad y calidad de excreción.

**Cuadro 1. Características porcentuales por compuestos en el estiércol vacuno**

Parámetros	Estiércol fresco (%)	Estiércol seco (%)
Materia seca	6	16
N	0,29	0,58
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,17	0,01
K <sub>2</sub> O	0,10	0,49
CaO	0,35	0,01
MgO	0,13	0,04
SO <sub>4</sub>	0,04	0,13

Fuente: Tapia y Fries (2007).

Se debe prestar atención no solo a lo que el animal consume, sino también a lo que desecha, de modo que puedan ser minimizadas las pérdidas en el alimento y los efectos contaminantes al medio ambiente. Hernández *et al.* (2011) indicaron que la salinidad es un factor importante que pocas veces es tomado en cuenta y que es determinado en base a la conductividad eléctrica (CE) como medida de concentración de sales. En estudios realizados con excretas provenientes del establo universitario de la UNALM, Iparraguirre (2007), determinó una conductividad de 17,25 dS m<sup>-1</sup>, mientras que Otárola (2007), registró un valor de 22 dS m<sup>-1</sup>, la salinidad resultante en base a su conductividad y a las mediciones obtenidas es alta ya que la dieta del animal es rica en componentes que poseen alta concentración de sales.

El estiércol presenta alta capacidad de intercambio catiónico, a medida que se degrada va liberando los iones que afectan la fertilidad natural del suelo, generando sodicidad y salinidad (Salazar *et al.*, 2004). Esto puede incidir negativamente y afectar la productividad de los cultivos. La dotación de concentrado que reciben los animales en la Unidad Experimental de Zootecnia (UEZ) dentro del establo universitario se describen en el Cuadro 2.

**Cuadro 2. Formulación nutricional de alimentación para ganado vacuno**

Componente	Porcentaje (%)
Afrecho de trigo	57,8
Pepa de algodón	6,5
Maíz	11,6
Torta de soya	6,0
Hominy feed	10
Melaza de caña	6,0
Carbonato de calcio	1,1
Sal	0,5
Premix leche estándar	0,3
Gusansol bovis	0,07

Fuente: Jefatura UEZ de la Universidad Agraria La Molina (2016).

Los estiércoles presentan elevada población microbiana, su rumen contiene una gran diversidad de microorganismos. Las poblaciones de bacterias comprende microorganismos que digieren la celulosa, el almidón y la hemicelulosa; fermentadores de azúcar; otros que metabolizan los ácidos grasos, bacterias metanógenas, bacterias proteolíticas y bacterias lipolítica (Atlas y Bartha, 2008). Los resultados obtenidos en la cuantificación de microorganismos presentes en un análisis microbiológico realizado en excretas frescas de vacuno, se describen en el Cuadro 3.

**Cuadro 3. Análisis microbiológico de excretas frescas de ganado de establo lechero**

<b>Ensayo microbiológico</b>	<b>Cantidad</b>
Coliformes totales (NMP g <sup>-1</sup> )	11x10 <sup>7</sup>
Coliformes fecales (NMP g <sup>-1</sup> )	11x10 <sup>7</sup>
Mohos (UFC g <sup>-1</sup> )	27x10 <sup>5</sup>
Levaduras (UFC g <sup>-1</sup> )	4x10 <sup>5</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC g <sup>-1</sup> )	34x10 <sup>6</sup>
Aerobios mesófilos viables (UFC g <sup>-1</sup> )	81x10 <sup>6</sup>

Fuente: Peralta *et al.* (2016).

## **2.2 Tratamientos de estiércol vacuno para reducción de la salinidad**

La conductividad eléctrica es una medida de la referencia de la concentración de sales en un sustrato. Por lo general, los estiércoles y entre estos los de vacuno, presentan elevadas concentraciones en base a la dieta que ingiere el ganado (Barbazán *et al.*, 2011). El aspecto clave de esta variable es que condiciona su empleo como componente de sustratos debido a su alto contenido en sales solubles. La salinidad es uno de los principales factores responsables del deterioro del suelo y su incapacidad para la agricultura, especialmente en las regiones áridas y semiáridas. La reducción del crecimiento de las plantas causada por la salinidad es la consecuencia de alteraciones en varios procesos fisiológicos, por ello se han diseñado varias formas de tratamiento que se describen a continuación:

### **a. Lavado**

Iglesias (1995) indica que la técnica tradicional de lavado de la excreta de vacuno es aplicada generalmente con el objetivo de reducir su conductividad eléctrica (CE). Al efectuarse el lavado del estiércol con agua, debe asegurarse que el agua contenga la menor cantidad de sales posibles, cuidando que el drenaje sea eficiente para evitar los estancamientos. Se debe tratar de conseguir que el agua se infiltre, tanto en profundidad como en la superficie, facilitando el drenaje y el desague del agua residual. Por otro lado, al emplear esta técnica se ha comprobado que el volumen de agua adecuado para el lavado

del estiércol vacuno es de tres volúmenes por cada volumen de sustrato (Hernández *et al.*, 2011).

Román *et al.* (2013) indican que cuando se produce el lavado de la excreta de vacuno con agua, este recurso puede disolver los nitratos y otros componentes solubles del estiércol y transportarlos disueltos en su seno cuando se infiltra en el suelo descendiendo hasta las aguas subterráneas. De igual manera cuando el estiércol es almacenado al aire libre por efecto de la lluvia, el agua arrastra sus componentes nutritivos. Por esta vía se puede perder 20 % de nitrógeno, 5 % de fósforo y más de 35 % de potasio (Iglesias, 1995).

Otro elemento que se lixivia es el fósforo. La USDA Foreign Agricultural Service, en el 2003 describió en base a sus estimaciones mundiales de inventarios de ganado y aves de corral de 1997 a 2001, que el fósforo producido por los animales domésticos es equivalente al consumo total de fertilizantes comerciales de P cada año, y que el 60 - 90% de este elemento en el estiércol se encuentra en forma inorgánica (Mullins *et al.*, 1996). En relación al fósforo indicó que su presencia en los estiércoles de vacuno también es importante, tanto desde el punto de vista de la nutrición de las plantas y crecimiento de cultivos como desde la perspectiva ambiental, debido a que este elemento, en base a sus diversas formas presentes en las excretas podría afectar su liberación desde el suelo al agua a través de la escorrentía y la lixiviación al aplicar su lavado (Liu, 2013).

#### **b. Aplicación con zeolita**

Las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos, hidratados de cationes alcalinos y alcalinotérreos que poseen una estructura tridimensional abierta e infinita. Destacan por su capacidad de hidratarse y deshidratarse de un modo reversible. La capacidad de intercambio catiónico (CEC) de las zeolitas naturales varía de 2 a 4 meq g<sup>-1</sup>, aproximadamente el doble de la CEC de la arcilla de bentonita (Noori *et al.*, 2006). También, presentan gran selectividad por los cationes. Las zeolitas; clinoptilolita y chabazita tienen preferencia por los cationes más grandes. Por ejemplo, la selectividad de la zeolita clinoptilolita por los cationes sigue el orden de: Cs > Rb > K > NH<sub>4</sub> > Ba > Sr > Na > Ca > Fe > Al > Mg > Li, mientras que en la zeolita chabazita su selectividad empieza por Tl > Cs > K > Ag > Rb > NH<sub>4</sub> > Pb > Na = Ba > Sr > Ca > L (Mumpton, 1999).

En base a esta propiedad de selectividad y preferencia por los cationes como el  $\text{NH}_4^+$ , esta propiedad ha sido explotada para la eliminación de  $\text{NH}_4\text{-N}$  de efluentes de aguas residuales municipales (Thushari *et al.*, 2018) y a la vez se ha extendido dentro de la agricultura y acuicultura. De igual manera la preferencia de las zeolitas clinoptilolita, ligeramente mayor de  $\text{Na}^+$  sobre  $\text{Ca}^{2+}$  ha hecho que éstas sean una mejor opción para eliminar este catión y, por ende, lograr una disminución de la conductividad eléctrica. Algunas de las ventajas de utilizar la zeolita natural como intercambiador de cationes para el tratamiento de salinidad son su bajo costo y, además, su capacidad para retener los cationes naturales y antropogénicos (Vance *et al.*, 2007).

De igual modo Turan (2008) obtuvo diferencias estadísticamente significativas en la reducción de la CE del compost de gallinaza al utilizar zeolita natural, la cual mejoró su calidad y a la vez estableció condiciones convenientes para la producción de compost a partir de la cama de aves. La zeolita natural transporta una carga negativa equilibrada, en la cual se mueven libremente los cationes con cargas positivas. Esto proporciona una trampa ideal para cationes positivos como el  $\text{Na}^+$ , que luego se liberan cuando las plantas lo requieren.

Su estructura forma cavidades ocupadas por iones grandes y moléculas de agua con gran libertad de movimiento que permiten el intercambio iónico y la deshidratación reversible, mediante el uso de 5 y 10 % de zeolita natural, se logró absorber a los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  ingresando a la estructura del compost, al término del proceso de compostaje el nivel de salinidad en el producto final disminuyó al aumentar la cantidad de zeolita natural. En relación a la concentración de sales del compost final, se absorbió el 66,64 % de su contenido empleando 5 % de zeolita y 88,92 % al emplearla al 10 % de zeolita, la conductividad eléctrica (Turan, 2008).

### **c. Aplicación de microorganismos eficaces**

Pairintra y Pakdee (1988) emplearon soluciones madre de (EM®), a nivel de laboratorio e invernadero, para evaluar las poblaciones microbianas de las soluciones en los compost tratados con (EM®), y dilucidar la dinámica de los soluciones (EM®) en condiciones de suelo salino. Los resultados demostraron la presencia abundante de actinomicetos, bacterias y hongos, al tratar al compost con (EM®) en la dilución 1:500. Al emplear las enmiendas de compost, estas ejercieron efectos sobre el pH y la CE del suelo salino. Los resultados finales demostraron que el compost tratado con EM® puede ser recomendado

como una enmienda eficiente del suelo para mejorar un suelo ligeramente salino. En base a esto se propició la reducción de la CE del extracto del suelo a  $0,03 \text{ dS m}^{-1}$ .

### **2.3 Compostaje**

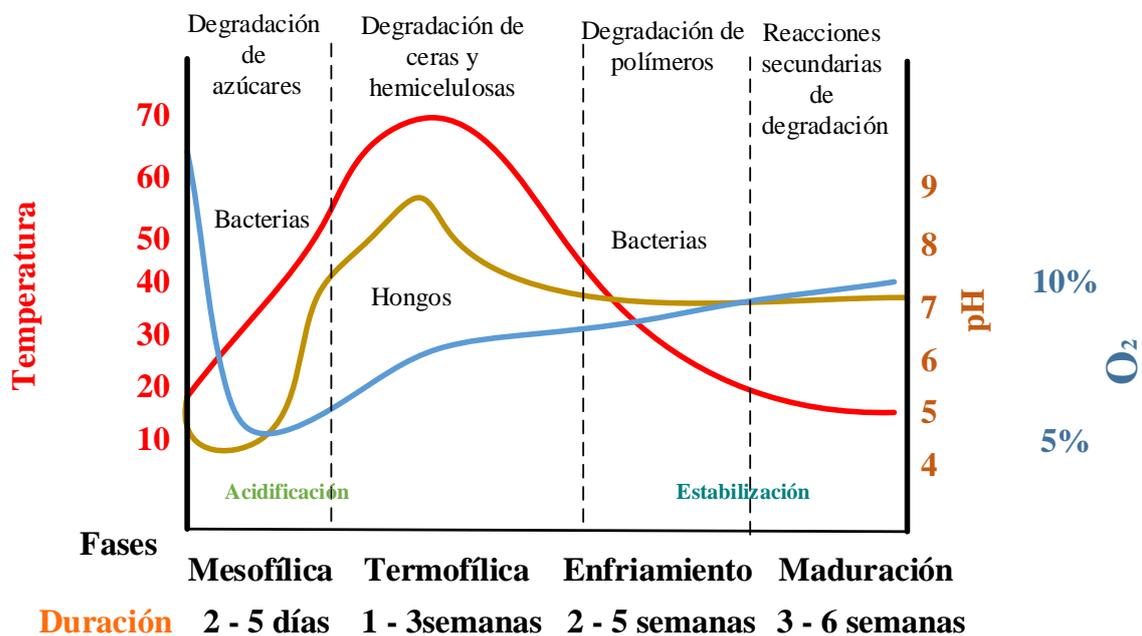
El compostaje es un proceso biológico que implica la degradación acelerada de la materia orgánica consumida por los microorganismos mesófilos y termófilos aerobios en presencia de oxígeno, bajo condiciones controladas de humedad y temperatura. Mediante este proceso se asegura la transformación de los restos orgánicos, siendo sus principales productos  $\text{CO}_2$ , agua, iones minerales y materia orgánica estabilizada (Inbar *et al.*, 1993). Este abono mineralizado presenta una composición homogénea y, en las mayoría de las veces, alcanza su sanitización (Lazcano *et al.*, 2008).

Para un compostaje efectivo se debe tener en consideración: los nutrientes, los metales pesados, la temperatura, las tasas de aireación, los microorganismos benéficos, la generación de olores y el costo del compostaje, entre otros factores que permiten la aceleración del tratamiento de los desechos orgánicos (Tortarolo *et al.*, 2008).

El empleo de un material que no haya finalizado correctamente el proceso de compostaje puede arrastrar riesgos como: fitotoxicidad, bloqueo biológico del nitrógeno (material que no alcanzan una relación C/N equilibrada), reducción de oxígeno radicular, exceso de amonio y nitratos en las plantas y contaminantes de fuentes de agua, entre otros (Atiyeh *et al.*, 2000). Dentro de este proceso se incluyen diferentes fases que deben cumplirse para obtener un compost de calidad (ver Figura 1).

En la fase mesófila, el proceso de compostaje empieza a temperatura ambiente y en pocos días (e incluso horas), alcanza los  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  debido a la actividad microbiana que presenta, los microorganismos utilizan las fuentes sencillas de C y N generando calor. Seguidamente, a esta fase inicia la fase termófila o de higienización que alcanza desde  $45$  a  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ , los microorganismos que se desarrollan a temperaturas medias (microorganismos mesófilos) son reemplazados por aquellos que crecen a mayores temperaturas (bacterias termófilas), facilitando la degradación de fuentes más complejas de carbono como la celulosa y la lignina (Tognetti *et al.*, 2005).

En la fase de enfriamiento, cuando se agotan las fuentes de C y N en el material de compostaje, la temperatura empieza a descender nuevamente entre 40 a 45 °C. Durante esta fase, continúa la degradación de polímeros como la celulosa y aparecen algunos hongos visibles a simple vista. Al bajar la temperatura los organismos mesófilos reinician su actividad y el pH del medio desciende levemente, aunque en general el pH se mantiene ligeramente alcalino. Finalmente, en la fase de maduración a temperatura ambiente, se producen reacciones secundarias de condensación y polimerización de compuestos carbonados para la formación de ácidos húmicos y fúlvicos (Román *et al.*, 2013).



**Figura 1. Temperatura, Oxígeno, pH en el proceso de compostaje**  
FUENTE: Román *et al.* (2013).

### 2.3.1 Métodos rápidos de compostaje

Estos métodos brindan la opción de alcanzar en menor tiempo un producto final estabilizado a comparación de un compostaje tradicional. Misra *et al.* (2003) detallan metodologías basadas en enfoques claves con el fin de reducir el proceso de compostaje, algunas de ellas emplean procesos biotecnológicos que se detallan a continuación:

- Método rápido de compostaje *Berkley*: emplea material triturado y volteos frecuentes a una humedad del 50 %. El espesor del material debe oscilar entre 1/2 y 1 1/2 pulgadas de tamaño. Si el material presenta tejido blando, no es necesario cortarlo en pedazos muy pequeños, al contrario si el material es duro o leñoso deberá ser dividido para descomponerse rápidamente (Misra *et al.*, 2003). Román *et al.*, (2013), indicaron que una

relación C/N de 30:1 permite que el compostaje funcione con mayor eficacia. La mezcla de volúmenes iguales de material vegetal verde con volúmenes iguales del mismo material seco dará aproximadamente una proporción de 30:1 (C/N). Si esta relación es baja la materia orgánica se descompone muy rápidamente propiciando la pérdida de nitrógeno, lo cual significa que el nitrógeno se está perdiendo en el aire. El tiempo de compostaje oscila entre dos a tres semanas.

- Método en caliente de *North Dakota State University*: emplea pilas de altura de 6 pies (1,8 m). Para mantener la población de bacterias aeróbicas alta y activa, se debe agregar 0,12 kg de fertilizante nitrogenado por pie cúbico de materia seca y realizar de cuatro a cinco orificios en el centro de la pila. En este sistema, bacterianamente activo y de alta temperatura, es conveniente girar el material de compostaje cada tres a cuatro días. Una vez activado, hay que esperar a que la temperatura oscile entre 49 a 71 °C. La descomposición irá más rápido en verano (de tres a cuatro semanas) y tomará más tiempo en primavera y otoño (Misra *et al.* 2003).

- Método rápido de compostaje *IBS* (Institute of Biological Sciences): fue nombrado por el Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Filipinas, este implica la inoculación de los sustratos de plantas empleados para compostar con cultivos de *Trichoderma harzianum* (hongo descomponedor de celulosa). La tecnología es un desarrollo del tipo montículo de compostaje. El tiempo de compostaje varía de 21 a 45 días, dependiendo de los sustratos de la planta utilizados (Abdel-Rahman, 2016).

- Pilas con aire forzado: se basa en un sistema canalizado de aireación empleando un inyector de aire a través de una tubería en la pila de compostaje, éste proporciona el control directo evitando el volteo de los materiales a compostar. Cuando la pila se ha formado correctamente y el suministro de aire es suficiente la distribución es uniforme, el período de compostaje activo se completará en aproximadamente tres a cinco semanas con pilas con una altura de 5 a 8 pies en base a las características del material.

- EM® (*Effective Microorganism*): aceleran la producción de compostaje: el inóculo se prepara mezclando 10 mL de EM® en 40 mL de melaza y 950 mL de agua y dejándolo durante cinco a siete días, dependiendo de la temperatura, se adiciona la solución a un litro de melaza y 98 litros de agua para obtener 100 litros de solución. Esta cantidad es suficiente para tres pilas (Misra *et al.*, 2003). La inoculación acelera el período de compostaje de tres meses a un mes. Diseminado el inóculo por toda la pila se la cubre con

plástico por dos o tres semanas, luego se voltea toda la pila para estimular la descomposición aeróbica. Con respecto a su productividad anual, al trabajar con un lote de ocho pilas cada una con capacidad de 900 kg, degradada en 30 días, produciría 86,4 t/año (0,9 t x 8 pilas x 12 meses) (Higa y Parr, 1989).

#### **2.4 Microorganismos benéficos (MB)**

Es difícil cuantificar a todos los microorganismos benéficos, a pesar de que cientos de especies de microorganismos se han reconocido, se estima que el número de especies desconocidas es inmenso, cada vez que los microbiólogos examinan una muestra de suelo, descubren especies desconocidas. Los microorganismos son actores importantes en un sistema de producción y pueden ayudar en el desarrollo de sistemas agrícolas sostenibles (Wilkinson, 2009).

Pedraza *et al.* (2010) expresan que la contribución de los microorganismos depende de su estado fisiológico, actividad enzimática y concentración, así como, de la disponibilidad de los compuestos a utilizar. Sin embargo, se debe tener en cuenta que cultivos mixtos más específicos por sus propiedades benéficas ya han sido obtenidos y patentados por el Dr. Teruo Higa.

No obstante, Ong *et al.* (2001) argumentan que entre las varias alternativas beneficiosas de inoculación a lo largo del proceso de degradación así como en su producto final se incluyen: supresión de patógenos de suelo, aceleración de la descomposición de residuos orgánicos, incremento de mayor disponibilidad de nutrientes mineralizados para las plantas, mejora de la actividad microbiana, incremento de nutrientes (fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fósforo) (Gupta, 2012). No obstante, aún queda mucho por conocer pues se necesita entender las relaciones e interacciones ecológicas con otros microorganismos, incluyendo su habilidad para coexistir en cultivos mixtos.

La mayoría de las especies en inoculantes son especies heterótrofas, que requieren fuentes orgánicas de carbono y nitrógeno para su nutrición. Siendo más eficaz su inoculación cuando han sido aplicados en combinación con materiales carbonitrogenados. Estos microorganismos producen hormonas vegetales, antioxidantes y sustancias bioactivas beneficiosas y solubilizadoras de nutrientes (Alfonso *et al.*, 2007).

El empleo de microorganismos benéficos se debe a la necesidad actual de contrarrestar el impacto sanitario y ambiental puesto que se constituyen en un cultivo mixto líquido de

microorganismos como lo son: *Rhodopseudomonas* sp., *Lactobacillus* sp., *Saccharomyces* sp., actinomicetos y hongos fermentadores entre otros, obtenidos de la naturaleza y sin modificación genética, capaces de coexistir entre sí enriqueciendo la microflora, balanceando los ecosistemas microbiales y suprimiendo microorganismos patógenos (Hoyos *et al.*, 2008).

**a. Microorganismos eficientes (EM)**

En 1980, una clasificación más específica de los microorganismos benéficos fue sugerida por doctor Teruo Higa de la Universidad Ryukyus de Japón. A este grupo se le reconoce mundialmente por sus siglas EM (*effective microorganisms*), como microorganismos efectivos y es una marca registrada internacionalmente (EM®).

Higa definió a los EM como un cultivo mixto de 125 especies de microorganismos benéficos (bacterias ácido lácticas, levaduras y un número más pequeño de bacterias fotosintéticas) de ocurrencia natural, que pueden ser aplicados como inoculantes para incrementar la diversidad microbiana de las plantas, suelos, degradación de materia orgánica etc. Estos microorganismos son compatibles mutuamente unos con otros, capaces de coexistir en un cultivo líquido (Higa y Parr, 1989). A continuación, se detalla la composición de los EM®.

**Cuadro 4. Composición de los microorganismos eficientes EM®**

<b>Grupos de microorganismos</b>	<b>Géneros y especies</b>
Bacterias lácticas	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Streptococcus lactis</i> ,
Bacterias fotosintéticas	<i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i>
Levaduras	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Candida utilis</i>
Actinomicetos	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> <i>Streptomyces albus albus</i>
Hongos	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Mucor hiemalies</i>

Fuente: Modificada de Restrepo (2001).

Este grupo selecto se ha constituido en una tecnología desarrollada, cuyas experimentaciones lograron estabilizar a los microorganismos a pH muy bajos en los cuales muchos microorganismos indeseables mueren (Higa y Parr, 1989). No obstante, los microorganismos eficientes (EM®) pueden incluso reducir no sólo la contaminación del microambiente (control de moscas, malos olores), sino también, mejorar la calidad del desecho orgánico a procesar, acelerando la estabilización del proceso y, por ende,

disminuyen el impacto ambiental, puesto que el EM® es un inoculado constituido por la mezcla de varios microorganismos benéficos como se puede apreciar en el Cuadro 4 (Restrepo, 2011).

En países como Japón, EEUU, Costa Rica, entre otros, se han desarrollado estudios sobre la transformación de desechos urbanos, industriales, agrícolas y agropecuarios en fertilizantes de buena calidad con la ayuda de microorganismos eficientes (EM). Los EM como se detalla en el Cuadro 4, son un cultivo múltiple de microorganismos eficientes capaces de coexistir entre sí para modificar ambientes degradados volviéndolos saludables y productivos. Estos microorganismos poseen alta capacidad antioxidante, con una amplia gama de aplicaciones. en base a sus efectos positivos en los cultivos, agricultura y ganadería (Restrepo, 2011).

Arias (2010) describe que cuando los microorganismos eficaces incrementan su población, como una comunidad en el medio en que se encuentran, se incrementa a su vez la actividad de los microorganismos naturales, enriqueciendo la microflora, balanceando los ecosistemas microbiales, suprimiendo microorganismos patógenos causantes de enfermedades en las plantas.

#### **b. *Bacillus spp***

Estos microorganismos producen amilasas que degradan el almidón al igual que el hongo *Aspergillus* que además produce proteasas, glucoamilasas y pectinasas. *Bacillus spp.*, producen enzimas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos, permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuentes de carbono y donadores de electrones (Cariello *et al.*, 2007).

Los bacilos son organismos industriales atractivos por una variedad de razones, incluyendo sus altas tasas de crecimiento que conducen a ciclos de fermentación cortos, su capacidad para secretar las proteínas en el medio extracelular y el estado GRAS (*generally recognized as safe*) (Schallmey *et al.*, 2004).

Mende *et al.* (2012) manifiestan que en *Bacillus sp.*, el estatus GRAS considera a estos organismos y sus metabolitos como seguros ambientalmente y cuando estos son agregados a los alimentos. Además, demuestran una capacidad para producir EPS (polisacáridos extracelulares). El desarrollo de la industria agroalimentaria y en particular

la utilización de materias primas nuevas demuestra el interés creciente hacia este grupo de bacterias.

El empleo de *Bacillus* sp., ha sido normado por la Unión Europea, la cual ha autorizado su uso como probióticos en la alimentación animal. El uso de probióticos o bacterias benéficas, que confieren un efecto sobre la salud en el huésped, es cada vez más visto como una alternativa a los antibióticos en la acuicultura, por ejemplo: se ha demostrado mediante investigaciones que el *Bacillus* sp., utilizado como suplemento dietético o como un aditivo de agua podría aumentar la tasa de crecimiento significativamente, mejorando a su vez la resistencia a las enfermedades en camarones y pescados por la supresión de los patógenos, mejorando su inmunidad y a la vez la calidad del agua (Han *et al.*, 2015).

Schallmey *et al.* (2004) describen que actualmente la inserción de nuevas técnicas moleculares de clasificación molecular como también nuevos análisis filogenéticos, hibridación DNA-DNA están conduciendo a la búsqueda de una nueva reclasificación de la gran gama de especies de *Bacillus* existentes y así como también, a la creación de nuevos géneros. Por ejemplo, el *Bacillus stearothersophilus* y *B. brevis* se han reclasificado como *Geobacillus stearothersophilus* y *Brevibacillus brevis*, respectivamente.

Tam *et al.* (2006) señalan que estos microorganismos han desarrollado diferentes estrategias para responder a los distintos y continuos cambios que su hábitat natural suelo los somete propiciando el desarrollo de diferentes estrategias como respuesta a estos cambios. Los metabolitos responsables de la actividad antifúngica y antibacteriana de cepas *Bacillus subtilis* se encuentran en las proteasas, las quitinasas y los lipopéptidos antimicrobianos.

Las cepas que muestran una potente actividad antifúngica, pertenecientes a las especies *Bacillus subtilis* y *B. amyloliquefaciens*, deben su actividad microbiocida a la capacidad de producir tres tipos de lipopéptidos cíclicos en cantidades elevadas y homogéneas, sintetizados no ribosómicamente, pertenecientes a las familias de las *iturinas*, *surfactinas* y *fengicinas* (Orberá *et al.*, 2014).

En un estudio de Maruta *et al.* (1996) citado por Milián *et al.* (2008) describen que la administración de *Bacillus subtilis* (C-3102) a pollos de ceba como probiótico permitió evaluar el decrecimiento de patógenos intestinales como *Salmonella* y *Campylobacter*. Los resultados para ambos patógenos, mostraron decrecimiento en el número y rango de

detección debido a que una de las principales acciones probióticas de este microorganismo es la producción de enzimas que mejoran la función digestiva en las aves y estimula la proliferación de linfocitos CD 4 y CD 8 en el intestino de las aves. Asociando con materia vegetal, se esperaría que esporas de Bacilos podrían entrar en el tracto gastrointestinal (TGI) de animales por ingestión. Las principales señales que inducen la germinación de la espora son las nutricionales y un pH bajo en algunas especies de *Bacillus* spp., ha demostrado que contribuye a la activación del proceso de germinación razón por lo cual se piensa que la germinación de las esporas ocurren fácilmente en el TGI (tracto gastrointestinal).

En un estudio realizado por Hoa *et al.* (2001) en el cual se estudió la persistencia y la diseminación de las esporas de *Bacillus* sp., administradas por vía oral a ratones se encontró que las esporas no parecen difundirse a través de las superficies mucosas del intestino. Sin embargo, el número de esporas excretadas en las heces de los ratones resulto ser mayor al inoculado originalmente. Llegándose a la conclusión de que la germinación de una parte del inóculo de esporas ocurre en el TGI, seguido de ciclos limitados de crecimiento celular.

## **2.5 Microorganismos benéficos en el tratamiento de excretas de animales**

Las excretas de animales son subproductos que debe verse como un producto con alto valor agregado con el fin de favorecer económicamente la producción y entrar en un mercado globalizado que exige productos que mejoren el medio ambiente. Una de las alternativas que se presenta en los últimos 10 años es la técnica de inoculación microbiana, que bien utilizada puede reducir no sólo la contaminación del microambiente sino también mejorar la calidad del compost, acelerando sus procesos de estabilización y disminuyendo el impacto ambiental (Uribe *et al.*, 2001).

El concepto de compost con microorganismos efectivos (EM®) fue ya desarrollado en 1971, por el profesor Teruo Higa, quien lo describe como un fertilizante bio-orgánico preparado a partir de la combinación con inoculantes microbianos, que estimulan el crecimiento de las plantas y la fertilidad del suelo (Sharma *et al.*, 2017). Su empleo en el compostaje está reconocido como una tecnología de biorremediación con el objetivo de mejorar la tasa de degradación y la calidad del compost (Fan *et al.*, 2017). Cualquier tipo de estiércol puede ser empleado como elemento activador del proceso de compostaje de materias orgánicas diversas, ya que por lo general aportan grandes cantidades de sustancias

activadoras, enzimas y el nitrógeno suficiente para favorecer el proceso de compostaje obteniéndose un producto final estable, el cual puede ser aplicable al suelo.

Cariello *et al.* (2007) al trabajar con una mezcla de microorganismos endógenos con una concentración independiente de  $1 \times 10^7$  UFC mL<sup>-1</sup> de cada microorganismo (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* y *Aspergillus fumigatus*) obtuvieron resultados satisfactorios al emplear este consorcio microbiano en la descomposición de excretas. El volumen empleado por cada metro cúbico fue de dos litros y aplicado por aspersión. Al término del proceso, se comprobó que estos microorganismos endógenos aceleraron el compostaje de acuerdo a los indicadores de estabilidad y madurez, cuantificados en las pilas, en menor tiempo del convencional que las pilas testigos sin inoculación. No obstante, los cambios en los parámetros como el pH, la CE y la relación C/N son influenciados por la materia prima, pero no son afectados por la inoculación microbiana (Park, 2011).

Medina *et al.* (2017) señalan que la función del inóculo es mantener una dinámica que active a los microorganismos, reduciendo el tiempo del compostaje. En la medida en que la actividad de los microorganismos incrementa, la acumulación de CO<sub>2</sub> es mayor, a la vez la calidad del compost y su madurez se garantizan al disminuir la cantidad de CO<sub>2</sub>, lo cual se puede atribuir a que el abono orgánico presenta diferentes etapas de descomposición.

## **2.6 Biología de la lombriz roja de californiana (*Eisenia foetida*)**

### **2.6.1 Taxonomía y características anatómicas**

#### **a. Clasificación taxonómica**

Barbado (2003) señala que de las más de 8000 especies de lombrices conocidas solamente 2500 han sido clasificadas y tres de ellas han podido ser domesticadas. *Eisenia foetida* es la más conocida y utilizada en más del 80 por ciento de los criaderos del mundo. Meglitsch (1972) describe que el esquema de desarrollo primitivo de los anélidos implica, principalmente, un estado larvario ciliado. Se requiere un cambio radical para desarrollar un embrión que puede sobrevivir en un hábitat terrestre.

A continuación, en el Cuadro 5, se presentan algunas características de la lombriz (*Eisenia foetida*).

**Cuadro 5. Principales características de *Eisenia foetida***

<b>Categoría ecológica</b>	<b><i>Eisenia foetida</i></b>
Origen	Eurasia
Subreino	Metazoo
Tipo	Anélido o gusano segmentado
Clase	Clitelados
Orden	Oligoquetos
Familia	Lombricidos
Color	Marrón con bandas amarillas
Tamaño adultos (mm)	4-8 x 50-100
Peso medio adulto (g)	0,55
Tiempo de maduración (días)	28 – 30
Número de capullos por día	0,35 - 05
Talla media capullos (mm)	4,85 x 2,82
Viabilidad eclosión (%)	73 – 80
Número de descendientes por capullo	2,5 – 3,8
Reproducción monoparental	+
Ciclo de vida (días)	45 – 51
Temperatura óptima y límites (°C)	25 (0 - 35)
Humedad óptima y límites (%)	70 - 90
Cópula	Cerca de la superficie
Puesta	48 horas después de la copula
Máxima esperanza de vida (años)	4,5 – 5
Hábitat:	No profundizan más de 30 a 40 cm en el suelo pues son Epigeas

Fuente: Domínguez y Gómez-Brandón (2010).

### **b. Anatomía externa**

Compagnoni y Putzolu (2001) señalan que el cuerpo de *Eisenia foetida* es cilíndrico, alargado, anillado y presenta 120 a 175 segmentos llamados somitos, separados por surcos transversales adelgazando por ambos lados y terminando en un extremo romo, levemente deprimido en su parte posterior, presentando su lado ventral aplanado y de color más pálido que su superficie dorsal.

Su extremo anterior, su boca se ubica en el primer somito, con un lóbulo carnoso que sobresale delante de ella denominado prostomio, sobre los somitos se localizan las quetas ventrales y laterales. La epidermis de *Eisenia foetida* se desarrolla encima de una membrana basal, debajo de la cual hay una fina capa de músculos circulares y otra capa más gruesa de músculos longitudinales. Su cuerpo está cubierto por una fina cutícula transparente, con finas estrías transversales que producen una ligera irisación (Storer *et al.*, 2003).

### **c. Anatomía interna**

Al diseccionar a una lombriz por su línea dorsal media se aprecian de manera general: dos tubos concéntricos, la pared externa del cuerpo y el tubo digestivo recto, en la parte interna; el celoma dividido por los septos que son tabiques transversales de tejido conjuntivo. No existen septos entre los somitos I y II, mientras que estos son incompletos entre los somitos III-IV y XVII –XVIII (Storer *et al.*, 2003).

En su cavidad se almacena el líquido celómico que contiene amebocitos (corpúsculos libres incoloros), ésta presenta poros diminutos que permiten a este líquido moverse acorde los movimientos del cuerpo de la lombriz, así como también, se encargan de mantener húmeda la superficie externa. Sus células celómicas ameboides se originan en el peritoneo del septo y el parietal y los eleocitos no ameboides en el peritoneo visceral, que se modifica como tejido cloragocítico. A medida que se desintegran las células celómicas estas son reemplazadas por otras nuevas (Gardiner, 1978).

#### **2.6.2 Sistema circulatorio**

Gardiner (1978) indica que el sistema circulatorio se encuentra formado por vasos longitudinales que irrigan la sangre constituida por plasma líquido que contiene amebocitos, (corpúsculos libres e incoloros). Mientras que los vasos sanguíneos se sitúan en la parte central. De éstos, el dorsal se conecta al aparato digestivo mientras que el ventral, se conecta en la parte anterior y posterior del cuerpo por redes de capilares que se difunden por el tegumento y la pared del intestino. Storer *et al.* (2003) indican que la sangre circula hacia todas las partes del cuerpo en un sistema cerrado. Al realizar un corte sagital se observa como el sistema circulatorio se extiende por todo lo extenso de la lombriz, así también, como sus vasos sanguíneos están próximos a la superficie de la epidermis.

#### **2.6.3 Sistema respiratorio**

Las lombrices de tierra respiran a través de la superficie de su cuerpo, a este proceso de intercambio de gases se le denomina intercambio tegumentario o cutáneo. La hemoglobina circula muy cerca de los capilares de la superficie del cuerpo, que por medio de la difusión recibe oxígeno y libera dióxido de carbono. Esta superficie siempre se mantiene húmeda por medio de las secreciones de las células epidérmicas. Por medio de los movimientos de todo el cuerpo el intercambio gaseoso es renovado, es así que el oxígeno contenido en las

bolsas de aire del suelo, se disuelve en esta envoltura húmeda y se difunde por los capilares del tegumento del sistema vascular (Gardiner, 1978).

#### **2.6.4 Sistema excretor**

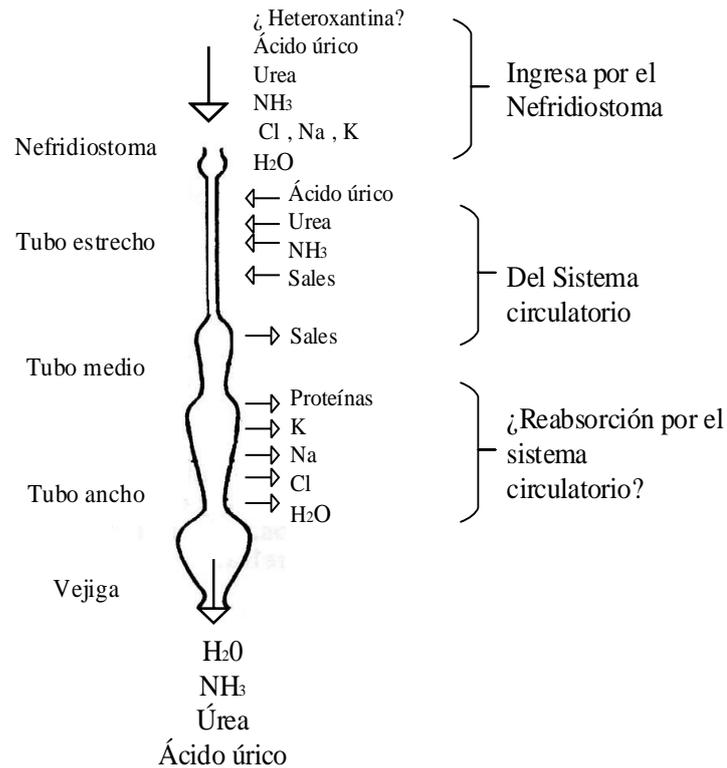
Los nefridios son los órganos excretores de la lombriz y se encuentran en los somitos. Estos actúan en gran parte como los túbulos del riñón humano: por filtración, resorción y secreción tubular formando una orina que se encuentra libre de proteínas y que contribuyen a la vez a mantener el estado de equilibrio del cuerpo (Gardiner, 1978).

Storer *et al.* (2003) indica que cada nefridio comienza en un tubo ciliado llamado nefrostoma, que se ubica en la base anterior del septo, es a través de este tubo que se inicia el proceso de excreción captando al líquido celómico con todas aquellas sustancias que le son de menor importancia, antes de abrirse al exterior el tubo nefridial suele dilatarse para formar una vejiga, todos estos productos acumulados en la vejiga son excretados por los nefridióporos que se abren cerca del par ventral de las quetas.

La orina es la resultante de un filtrado de restos proteicos que contienen amonio, urea y ácido úrico (Storer *et al.*, 2003). El ayuno prolongado también modifica la fisiología excretora en *Eisenia foetida*, cuando está bien alimentada excreta niveles altos de urea.

Es importante identificar los posibles mecanismos de una especie, al menos aquellos concernientes a la producción de sus productos de desecho, pues estos resultan satisfactoriamente significativos para determinar la extensión de sus hábitats posibles y la medida en que puede explorar y aprovecharse de otros nuevos hábitats. Las lombrices de tierra son las únicas que pueden pasar del amonotelismo al ureotelismo en todos los estados de alimentación e inanición (Gardiner, 1978).

La urea es muy soluble en agua, pero es un compuesto menos tóxico que el amoniaco (Gardiner, 1978). Dentro del organismo de la lombriz se produce una reabsorción en gran escala de sustancias útiles; la glucosa y los aminoácidos son absorbidos completamente, así como también, se observa la reabsorción de elementos como fosfato, cloruro, sodio, potasio y agua. No obstante, son excretados por los nefridios: agua, amoniaco, urea y ácido úrico (Figura, 2) (Marshall *et al.*, 2011).



**Figura 2. Esquema que resume el posible funcionamiento de los nefridios de los Oligoquetos, basado en Lumbricus**

Fuente: Marshall *et al.* (2011).

### Regulación de líquidos somáticos

Marshall *et al.* (2011) describen que es poco lo que se conoce acerca del metabolismo hídrico. Sin embargo, se sabe que estos organismos excretan considerables cantidades de orina hipotónica, la cual tiene un contenido de agua superior al 85 % de su peso. Cuando se les extrae desde la superficie del suelo no están completamente hidratadas y aumentan su peso si se sumergen en agua; eliminando de nuevo este líquido cuando se las regresa al suelo nuevamente. El agua puede salir del cuerpo vía bucal, anal, por los poros dorsales y los nefridios, como mucus y desde la superficie general del cuerpo de la lombriz.

El agua es absorbida a través de la superficie del cuerpo principalmente. Es un organismo que excepto en medios concentrados, mantiene una presión osmótica interna superior a la del medio, absorbiendo sales de soluciones muy diluidas, excretando una orina hipotónica y produciendo un volumen de orina estimado en un 60 % del peso del cuerpo cada 24 horas. *Eisenia foetida* es 80 % agua y 20 % materia seca, posee el 65 % de proteína. Algunas lombrices sufren un periodo de inactividad como respuesta a las altas temperaturas, falta de humedad o sequía, especialmente durante largos periodos veraniegos (Mérida *et al.*, 2012).

### 2.6.5 Sistema nervioso

García Conde *et al.* (2005) describen que este sistema alcanza su máximo desarrollo en los *Lumbricus spp.*, En el cerebro de la lombriz se localizan fibras tanto sensoriales como motoras. Tanto en los ganglios como en el cerebro de este organismo se han encontrado células neurosecretoras con función endocrina, las cuales secretan neurohormonas, que intervienen en la regulación de la reproducción, características sexuales secundarias y regeneración del cuerpo de la lombriz. En la epidermis del cuerpo de la lombriz se encuentran numerosos grupos de células sensitivas que abundan especialmente en los extremos anterior y posterior, en la parte ensanchada de cada somito y en la cavidad bucal de la lombriz. En ambos extremos, pero en mayor cantidad en el extremo del prostomio, se hallan las células fotorreceptoras en forma de lente que son las más sensibles a la luz. Los estímulos que se accionan sobre los receptores visuales permiten a la lombriz distinguir la luz del día y la oscuridad.

#### **Quimiosensibilidad**

Marshall y William (2011) indican que las lombrices al percibir el peligro suelen contraerse y guardarse inmediatamente. Por debajo de su superficie epidérmica se localizan las células fotorreceptoras en mayor cantidad sobre todo en el prostomio de la lombriz. La quimiosensibilidad le permite a la lombriz de tierra determinar la condición del suelo que es de gran importancia, no solo en su contenido de materia orgánica y alimento potencial, sino también en su textura, contenido de calcio y ácidos. Los registros de los potenciales de acción de los nervios han demostrado la presencia de una sensibilidad generalizada a los estímulos táctiles y una sensibilidad más localizada frente a los estímulos químicos.

Las lombrices de tierra pueden discriminar entre los alcaloides, azúcares y ácidos, así como distinguir las hojas de diferentes árboles y su estado de descomposición. Así mismo, pueden detectar también el grado de acidez del suelo y difieren en cuanto a su tolerancia al mismo. Se ha indicado que la quimiorrecepción en *Eisenia foetida* está relacionada con la elección del hábitat, estas se congregan en montones de estiércol y se desplazan desde la arena limpia hasta aquella que esta mezclada con humus gracias al olor que éste desprende (Gardiner, 1978).

## 2.6.6 Sistema digestivo

### a. Capacidad digestiva de la lombriz

El alimento es humedecido por la lombriz con secreciones semejantes a la saliva, procedentes de la región bucal, para luego engullirlo por acción muscular del prostoma o labios y ser aspirado hacia la faringe mediante sus trompas protráctiles de modo no selectivo (Storer *et al.*, 2003). La lombriz puede digerir la celulosa, por medio de sus propias enzimas, lo que es valioso para este organismo, teniendo en cuenta que las grandes cantidades de este material los obtienen de los restos de hojas y humus que ingieren (Gardiner, 1978).

El pH del intestino es notablemente estable, variando solo entre 6,3 – 7,3 a todo lo largo de su intestino. El alimento se almacena temporalmente en el buche y luego penetra en la molleja muscular, donde es triturado con la ayuda de granos de arena. En la parte inferior del intestino que forma el resto del tubo digestivo, constituye el lugar básico de la digestión y absorción (Marshall *et al.*, 2011).

Entre las enzimas secretadas por el intestino de los oligoquetos están: la liquenasa, proteasa, celulasa, quitinasa, amilasa y lipasa. Enzimas como la pepsina y tripsina, actúan sobre las proteínas; la lipasa, sobre las grasas; la celulasa, sobre la celulosa, y la amilasa, sobre carbohidratos. Los materiales digeridos son absorbidos en el intestino y los residuos son expulsados por el ano (Storer *et al.*, 2003). El lugar de producción de esta enzima ha podido ser localizado en la lombriz de tierra, ya que sus estructuras de la mitad posterior de su intestino muestran solo 1/10 parte de la actividad que poseen los de la región anterior (Gardiner, 1987).

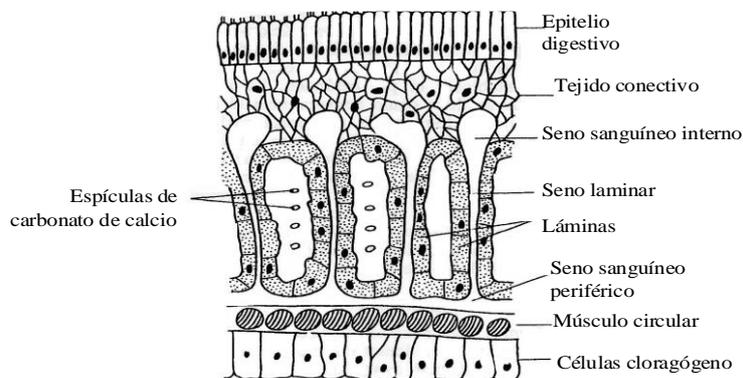
### b. Glándulas calcíferas

Marshall *et al.* (2011), describe que las glándulas calcíferas son un aspecto característico de la estructura interna de la lombriz irrigadas por los vasos sanguíneos. En su forma más simple consisten de evaginaciones laminares de la pared esofágica; mientras que en formas más evolucionadas éstas son independientes, comunicando con la luz del esófago por medio de un conducto. Citológicamente en los tres pares de glándulas calcíferas entre los somitos X – XIV; pueden identificarse dos tipos de células, cuya distribución divide cada glándula en dos regiones, las células de la región posterior se distinguen por sus mitocondrios que son de tipos distintos y por los repliegues profundos de la membrana

plasmática de sus bordes proximales adyacentes a los senos venosos sanguíneos. Las glándulas calcíferas semejantes a la de *Lumbricus* se encuentran en *Allolobaphora* y en *Eisenia foetida*, con hábitos alimenticios similares (Gardiner, 1978).

Marshall y William (2011), describen que estas glándulas secretan concreciones de carbonato de calcio en la luz del conducto digestivo, recorriéndolo sin sufrir cambios sensibles, hasta salir por el ano. Varias son las teorías propuestas para explicar la función de estas glándulas, investigaciones recientes indica que estas glándulas son órganos que controlan el equilibrio ácido – base del cuerpo.

Mérida *et al.* (2012) indican que el carbonato de calcio segregado permite controlar el pH, así como también, inhibe ciertos hongos y bacterias que se encuentran en los sustratos que consume la lombriz. Además, las glándulas calcíferas fijan cierto porcentaje del anhídrido carbónico metabólico producido por el cuerpo, en forma de carbonato cálcico ayudando así a establecer el pH celómico. La ablación de las glándulas calcíferas lleva como consecuencia el aumento de la acidez del líquido celómico. La anhidrasa carbónica, enzima relacionada con las reacciones ácido base en los tejidos animales, se encuentra en gran cantidad en estas glándulas (Marshall y William, 2011) (ver Figura 3).

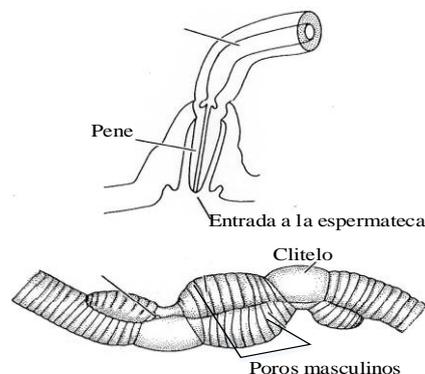


**Figura 3. Sección transversal de las glándulas calcíferas mostrando sus estructuras**  
Fuente: Marshall y William (2011).

En experimentos en los que se ha dado de comer a las lombrices fragmentos de papel filtro humedecido con soluciones de sales cálcicas se pudo comprobar que podían obtener el calcio tanto a partir del carbonato, como del sulfato, fosfato, oxalato, cloruro y nitrato, igual de bien que a partir del alimento natural una vez que el alimento ha llegado al esófago pasa al buche, a la molleja y de ahí al intestino (Gardiner, 1978).

### 2.6.7 Sistema reproductor y proceso de reproducción

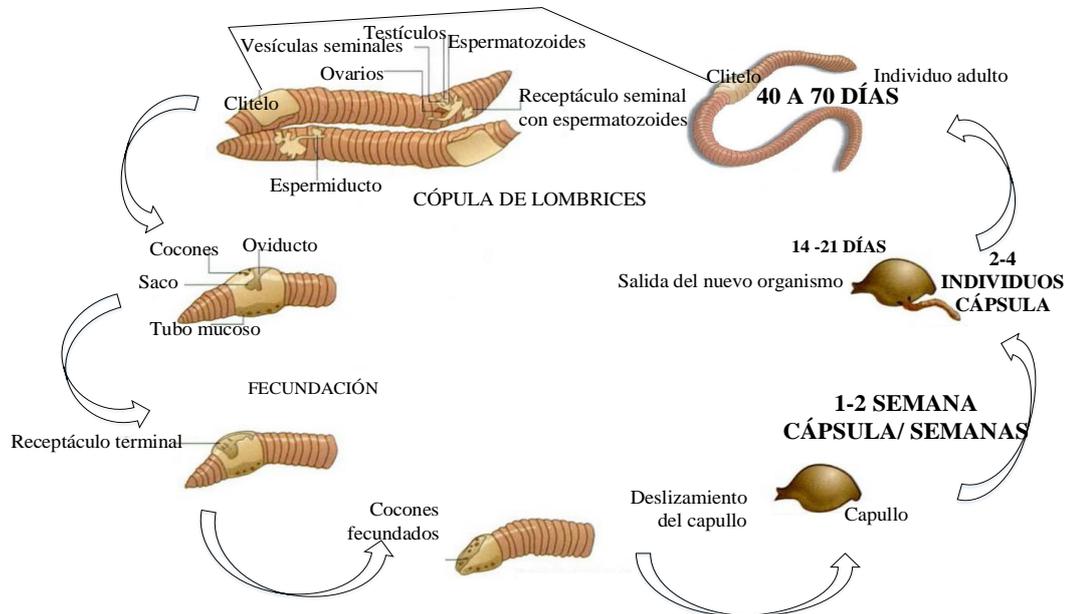
Barbado (2003), describe que un reproductor maduro puede producir, alrededor de 1500 crías en un solo año. Sobre la capacidad reproductora de las lombrices se han efectuado diversos experimentos cuyos resultados no siempre han coincidido, aunque casi todos han confirmado que en su reproducción estos organismos generan de dos a cinco cocones por semana (Venter y Reinecke, 1988). Las lombrices son consideradas hermafroditas incompletas, no pueden fecundarse por si solas, requieren del contacto entre dos lombrices a nivel del clitelo para que se produzca el intercambio de gametos. Compagnoni y Putzolu (2001) señalan que su frecuencia de apareamiento (fecundación cruzada) es de dos a tres veces por semana. Su sistema reproductor femenino esta formado por un par de ovarios ubicados en los segmentos XIII y XIV, cuya finalidad es la de producir los óvulos, los cuales se depositan en los ovisacos. Durante el desarrollo de la fecundación de los óvulos, estos salen por unos conductos denominados oviductos hasta los poros femeninos en el segmento XIV, que son aberturas de la pared del cuerpo por donde la lombriz los expulsa, mientras que el sistema reproductor masculino esta conformado por dos pares de testículos localizados entre los segmentos IX y X, cuya función es la de producir espermatozoides, los cuales se depositan en las vesículas seminales. Durante la cópula, el semen es transportado por los conductos deferentes, los cuales cuentan con sacos que reciben el semen de la otra lombriz durante la cópula (Tineo, 1994). La transferencia del esperma se realiza de manera directa en el género *Lumbricus*. El esperma sale por los poros masculinos y recorre los surcos seminales hasta los poros de las espermatecas de la pareja como lo detalla la Figura 4 (Brusca *et al.*, 2005).



**Figura 4. Transferencia directa del esperma desde los poros masculinos, a través de penes, al interior de las espermatecas**

Fuente: Brusca *et al.* (2005).

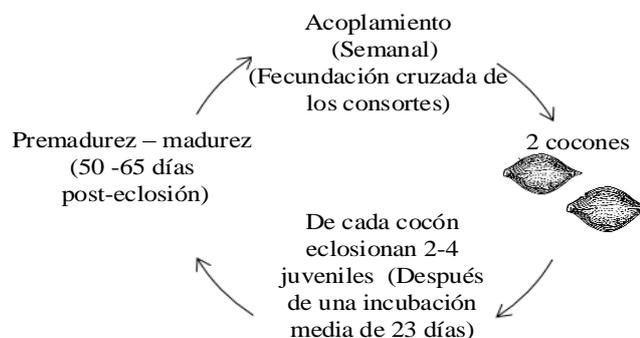
En general el ciclo de *Eisenia foetida* se describe a continuación en la Figura 5, dentro del período que a la lombriz le toma, para llegar a su madurez sexual y generar un nuevo individuo.



**Figura 5. Ciclo biológico de *Eisenia foetida***

Fuente: Adaptado de Saavedra (2007) y García Conde *et al.* (2005).

Las lombrices juveniles emergen después de una incubación promedio de 14 y 21 días a 25 °C y entre los 40 a 70 días alcanzan su madurez sexual (ver Figura 5). Estos organismos pueden vivir y reproducirse en cualquier ambiente con un mínimo de humedad, razón por la cual es fácil de encontrarlas en casi todo el mundo, son escasas en zonas donde el clima es excesivamente árido. El tránsito premadurez a madurez se presenta cuando la lombriz alcanza un peso de aproximadamente de 0,24 g y una longitud de 2,5 cm. (Saavedra, 2007). Schuldt (2006) describe el ciclo biológico a lo largo de 50 a 65 días en base de dieta de estiércol vacuno y conejo, en la Figura 6.



**Figura 6. Ciclo biológico de *Eisenia foetida* (dieta: estiércol vacuno y conejo). Temperatura 25 °C y una humedad relativa de 80 por ciento**

Fuente: Schuldt (2006).

Di-Masso *et al.* (1997) citado por Schuldt (2006) ha estimado que *Eisenia foetida* puede llegar a reproducirse al cabo de 2 – 3 meses. Su reproducción es semanalmente y durante todo el año, aunque su frecuencia de acoplamiento podría variar de las estaciones del año. En lo que respecta a la esperanza de vida de *Eisenia foetida* en condiciones controladas varía, según diversos autores, entre uno y cinco años (Venter y Reinecke, 1988).

#### **a. Eclosión de las ootecas de la lombriz**

Las ootecas reciben también el nombre de cápsulas o cocones. Después de unos días cada individuo efectúa la liberación de los ootecas que darán lugar a la nueva generación. Schuldt (2006) indica que alrededor del 90 % de los casos, se producen dos cocones (el cocón no es un huevo), sino que los contiene a estos en su interior Venter y Reinecke, (1988) sostienen la tasa de productividad de cocones por lombriz es de 3,5 cocones durante un periodo de 10 días, en base a lo cual estimaron la producción de 130 cocones por año. Storer *et al.* (2003) señalan que los individuos cautivos forman de 2 a 10 ootecas, a intervalos de tres a cinco días. Herrera y Mischis (1994) obtuvieron entre 4,33 a 3,16 embriones / cocón. El desarrollo de las lombrices es directo sin pasar por estados larvarios, recién nacidas las lombrices son de color blanco, a los cinco días de edad adquieren una tonalidad rojiza y a los 14 y 21 días unas son de color de sus progenitores. Con respecto al número de organismos juveniles que surgen de cada cocón Ferruzi (1987) describió que emergen de 1 y 21 organismos juveniles. Sin embargo, el número de lombrices indicados por este autor se aleja bastante de otras investigaciones, tornándose improbables. Por el contrario, Herrera y Mischis (1994) obtuvieron entre 4,33 a 3,16 lombrices / cocón. Es difícil establecer a que se deben los sesgos existentes entre la fecundidad potencial y la efectiva.

#### **b. Temperatura óptima para el desarrollo de los cocones**

Este parámetro es de aproximadamente 20 a 25 °C. A 25 °C las lombrices juveniles eclosionan, es decir, emergen del cocón de 14 a 44 días después de la cópula, con una media de 23 días (Venter y Reinecke, 1988). Respecto a las dietas Herrera y Mischis (1994), en su trabajo investigativo registraron de 25 a 30 días.

#### **c. Tamaño y color de los cocones**

Schuldt (2006) describe que el color de los cocones de *Eisenia foetida* orienta acerca del tiempo transcurrido desde su puesta. Las puestas recientes son amarillo – verdosas, con un contenido más o menos translúcido, que se torna parduzco (contenido es más opaco,

lechoso) con el tiempo. Los cocones abandonados persisten en el medio aún después de la eclosión de las crías, reconocibles hasta 6 meses después de la puesta. Los capullos de *Eisenia foetida* son aproximadamente más pequeños que un grano de trigo (Buchsbaum *et al.*, 1961).

#### **d. Tamaño y color de las lombrices juveniles**

Compagnoni y Putzolu (2001) señalan que al salir del cocón, la lombriz es prácticamente blanca. El tamaño de una lombriz recién nacida dependerá del número de nacidas por cada cocón. Varía de 4 a 20 mm en su longitud. A mayor número de lombrices por cada cocón, corresponderá menor tamaño al nacimiento, generalment presentan una longitud de 7 mm, aunque sigue sin adoptar su pigmentación característica.

Las lombrices crecen rápidamente, cada semana aproximadamente de 4 a 5 mm de longitud. En dos semanas, la lombriz mide de 12 a 15 mm de largo y empieza a tomar su tono rosado. A los tres meses adquieren un tamaño y peso adulto, aproximadamente 0,5 a 1 g. Su longitud en estado adulto es de 5 a 10 cm, presentando un color rosáceo. Di-Masso *et al.* (1997) citado por Schuldt (2006) registró como talla máxima entre 5 a 7 cm aproximada, mientras que al cabo de 5 a 6 meses registró longitudes de 12 cm, bajo dieta de estiércol de conejo.

## **2.7 Vermicompostaje**

El vermicompostaje es una técnica que está considerada como una posible opción en la jerarquía de manejo integral de residuos sólidos, esta técnica consiste en la estabilización de la materia orgánica por la acción conjunta de las lombrices y microorganismos obteniendo como resultado final del proceso, un producto estabilizado, homogéneo y adecuada granulometría final (Wani *et al.*, 2013).

El proceso de vermicompostaje incluye dos fases diferentes que involucran la actividad de las lombrices: una fase activa durante la cual las lombrices procesan los residuos, modificando su estado físico y composición microbial y una segunda fase de maduración marcada por el desplazamiento de las lombrices hacia las capas más refrescantes de residuos no digeridos, tal movimiento promueve también la aireación y esta a su vez la bio-oxidación microbiana permitiendo la descomposición de los residuos procesados por las lombrices (Edwards *et al.*, 2010).

La degradación, mineralización y estabilización a lo largo del proceso de vermicompostaje dependiendo del material empleado refleja una disminución de los valores de carbono orgánico total (TOC), y de nitrógeno entre un 59 y 69 % respecto a su contenido inicial, dichos valores a su vez dependen de factores como son: la naturaleza del residuo, cuán degradable sea éste, la especie de lombriz empleada y el tiempo del proceso (Benitez *et al.*, 1999).

Aunque los microorganismos son responsables de la degradación bioquímica de la materia orgánica, las lombrices de tierra son los motores importantes del proceso de acondicionamiento del sustrato y de alterar la actividad biológica en los procesos de bio-oxidación y estabilización de la materia prima, teniendo en cuenta algunos matices referentes a condiciones y contenidos para que las lombrices lleven a cabo su metabolismo. Se debe tener presente que el tiempo es un factor fundamental también. En lo que respecta a la calidad del producto resultante, este variará acorde la composición inicial (Aira *et al.*, 2007).

Misra *et al.* (2003) señalan que el producto del vermicompostaje es un compost de alta calidad. El proceso no requiere volteo físico del material. Para mantener condiciones aerobias y limitar el aumento de la temperatura, la cama o pila de materiales debe ser de tamaño limitado. En lo que respecta a la temperatura esta debe regularse para favorecer el crecimiento y la actividad de las lombrices, debido a que la biodegradación y estabilización de la materia orgánica se lleva a cabo en condiciones mesófilas y aeróbicas mantenidas por la acción de las lombrices.

Dominguez *et al.* (2001) indican que hay evidencia de que estos organismos puede adaptarse a temperaturas mucho más altas. Hidalgo-Cortés (2017) describen que entre las especies más representativas en vermicompostaje son: *Allolophora caliginosa*, la cual es útil para la agricultura pero se reproduce escasamente. *Ocasium lacteum* es una lombriz parda que se desarrolla principalmente en los suelos arenosos y húmedos; *Dendrobaena alpina*, lombriz del lodo, la cual vive asociada a *Eisenia foetida*; *Lumbricus terrestris*, cava galerías profundas, se encuentra en regiones frías y es muy escasa; *Lumbricus rubellus*, habita tanto en la superficie como en el interior del suelo y por último *Eisenia foetida*, lombriz del estiércol o roja californiana, de gran actividad reproductiva.

### **2.7.1 Vermicompost o humus de lombriz**

El vermicompost es un excelente aditivo para el suelo, compuesto de compost digerido, las lombrices se alimentan de sustancias orgánicas y convierten el material en nutrientes disponibles para las plantas, se produce partir de una amplia gama de residuos orgánicos, como estiércol, biosólidos, papel y desechos de alimentos. Se puede considerar que un sustrato ha sido satisfactoriamente vermicompostado cuando desarrolla una comunidad microbiana estable, lo cual se refleja en un consumo  $O_2$  o producción de  $CO_2$  que no varía significativamente a lo largo del tiempo (Fernández, 2011).

Para su uso es esencial la estandarización del material de partida para obtener resultados consistentes. Adhikary (2012) describe que la evaluación de la actividad de ciertas enzimas en el vermicomposts ha sido considerada útil para estudiar la funcionalidad metabólica de su comunidad microbiana. El análisis de la actividad de diversos tipos de enzimas hidrolíticas, por ejemplo: celulasas, proteasas, fosfatasas  $\beta$ -glucosidasas ureasas, etc., ha sido determinada en multitud de estudios para evaluar la biodegradación y estabilización de residuos orgánicos durante procesos de vermicompostaje tanto a escala laboratorio como a escala piloto (Aira y Domínguez, 2010).

El análisis de la presencia de algunos genes funcionales dentro de la comunidad microbiana de un vermicompost podría permitir conocer la destreza de sus microorganismos para participar en diferentes procesos biológicos. Por consiguiente, el estudio de genes implicados en el desarrollo de procesos biológicos tales como: fijación de nitrógeno, desnitrificación, nitrificación, oxidación de  $CH_4$ , presentes en el metagenoma de la comunidad microbiana de vermicomposts proporciona información sobre la capacidad de esa comunidad para desarrollar esas funciones (Fernández, 2011).

Rivero, (1993) señala que el vermicompost y otras sustancias orgánicas del suelo forman un polímero nuevo, el cual, junto con una mayor descomposición de lignina y en combinación con las unidades fenólicas liberadas, pueden ser repolimerizadas en un nuevo polímero. De igual manera, los ácidos húmicos están constituidos de un esqueleto básico de unidades fenólicas oxidativamente polimerizadas, y amino-ácidos, péptidas y otras estructuras orgánicas que son enlazadas a las unidades fenólicas. Mientras que las ligninas son consideradas generalmente como una fuente principal, aunque no la única fuente primaria, de las unidades fenólicas para la síntesis del ácido húmico.

El vermicompost está dotado de una serie de propiedades en bases a su composición físico-química y microbiana como lo son las siguientes (Rivero, 1993):

- Constituye agregados muy estables
- Facilita la aireación e incrementa la permeabilidad de la tierra
- Suele carecer de microorganismos patógenos
- Su presencia, junto a los abonos químicos, favorece la asimilación de los últimos
- Dada su composición bacteriana, ayuda a la reactivación de los campos
- Actúa de enmienda, soltando los suelos arcillosos y cohesionando los arenosos
- Al acercarse su pH, a la neutralidad, ejerce la función tampón.

Ferruzzi (1987) detalla la producción proyectada en base al número de lechos para un medio y un año de vermicompost. Recién retirado el vermicompost de los lechos tiene una humedad aproximada de 80 a 82 % para poderlo cribar es preciso que esta oscile entre el 50 y el 60 %. A nivel comercial el vermicompost o humus se suele presentar a la venta en quintales de 45,35 kg en tres presentaciones como humus: extrafino, fino y grueso (ver Cuadro 6).

Compagnoni y Putzolu (2001) describen que se puede considerar la cría de lombrices en un proceso que inicia con la instalación general del cultivo, preparación e incorporación de las lombrices, segundo la alimentación regular tres veces al mes, pudiendo reajustar este ritmo en función de las características del cultivo y de la producción que se desee obtener. Seguidamente, la división de los lechos cada tres meses y, cada vez que sea necesario, la recolección del vermicompost.

**Cuadro 6. Producción por número de quintales (445,35 kg) semestral de vermicompost en lechos modulares (2x1m)**

Número de lechos	1 año	
	6 meses	12 meses
1	2,50	5
2	5,00	10
3	6,50	15
4	10,00	20
5	12,50	25
6	15,50	30
7	17,50	35
8	20,00	40
9	22,50	45
10	25,00	50
100	250,00	500

Fuente: Ferruzzi (1987).

## **2.7.2 Sistemas de vermicompostaje**

Según la forma en la que los residuos son procesados por las lombrices se puede distinguir entre los sistemas de vermicompostaje tradicional y de vermicompostaje con alimentación continua o flujo continuo (Garg *et al.*, 2008); sin embargo, a estos sistemas se suman el sistema techo a dos aguas propuesto por el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA, 2013) y de vermicompostaje bajo invernadero denominado (PSGH) (Biernbaum, 2015).

### **a. Vermicompostaje tradicional**

Fernández (2011) indica que los residuos y las lombrices son inoculados a la misma vez y su degradación se produce en un solo paso, una vez que ésta finaliza, se retira el material vermicompostado separándolo de las lombrices. Seguidamente, se detallan algunos dos de estos sistemas.

#### **-Litera o zanja**

Constituyen uno de los sistemas tradicionales de vermicompostaje. Su tamaño es flexible, pues depende del área disponible, pero por lo general su largo no debe de exceder de 2,4 m con una altura de 0,40 m, las camas son revestidas de concreto con materiales de construcción, esto permite eliminar el exceso de agua y que este drene fuera de la cama. Las cubiertas se retiran solo para el riego y la adición de nuevos materiales de desecho. Por otro lado, también se generan camas excavando el suelo, una vez instaladas las camas se alimentan con desechos orgánicos preparados, colocándolos sobre la superficie del lecho en capas delgadas de 5 a 10 cm cada semana, dependiendo del tipo de residuo (ver Figura 7 a).

#### **-Contenedores**

En estos sistemas el residuo orgánico es colocado al interior de recipientes o contenedores grandes. Los recipientes pueden ser de plástico, madera, fibra de vidrio, etc. De esta manera, las lombrices están más protegidas frente a las condiciones abióticas, en comparación con el sistema de literas o camas (Fernández, 2011). Una vez que la población de lombrices ha llegado a su límite y el residuo ha sido procesado. Se procede a la cosecha del vermicompost retirando primero las lombrices y transfiriéndolas a un nuevo recipiente. A pesar que este sistema se emplea en pequeña escala son ampliamente utilizados, tienen desventajas cuando se aplica a una escala mayor. Requieren considerable

maquinaria para la manipulación y elevación y también hay varios problemas relacionados con la adición de agua y capas adicionales de material nuevo y drenaje (ver Figura 7 b).

## **b. Vermicompostaje con alimentación continua**

### **-Vermicompostadores verticales modulares**

Están formados por varias unidades rectangulares o circulares desmontables, a manera de módulos, cuyo interior tiene perforaciones que permite el paso a las lombrices entre los módulos. Los módulos están ensamblados verticalmente, uno encima de otro. Un principio importante para mejorar la eficiencia del procesamiento de materia orgánica desechos de las lombrices de tierra es agregar los desechos a las camas en capas finas de 2,5 – 5,0 cm en uno a dos intervalos frecuentes (Edwards *et al.*, 2011). A la vez que se añade el residuo fresco, las lombrices se desplazan a través del sistema dejando el material consumido libre, el cual puede ser retirado del sistema para que los microorganismos completen el proceso de mineralización y estabilización del residuo (ver Figura 7 c).

### **-Vermicompostadores verticales mecanizados**

Se denominan también vermireactores verticales, se lleva a cabo la carga periódica del residuo a compostar sobre un contenedor elevado perforado en su parte inferior junto a un sistema de criba mecánico que permite descargar el residuo de las capas inferiores del contenedor una vez que ha sido vermicompostado. De tal manera que las lombrices ascienden en búsqueda de residuo fresco añadido periódicamente, liberando al residuo degradado sobre un receptáculo dispuesto debajo del vermireactor (Fernández, 2011) (Figura 7 d). Estos vermicompostadores, pueden ser relativamente sofisticados mediante una completa mecanización y automatización de los sistemas de adición y recolección de vermicompost. Su tiempo de vida es de 3 a 4 años (Edwards *et al.*, 2010).

## **c. Vermicompostaje en invernadero solar pasivo (PSGH)**

Está conformado por dos tipos de cubiertas: una primera cubierta exterior de polietileno y una segunda cubierta interior que dependerá de la estación climática. A la vez esta cubierta puede ser de polietileno o tela de sombra. En invierno, su revestimiento externo con la cubierta de polietileno permite la retención de calor, mientras que en verano la cubierta interna de malla de sombreo evita el exceso de calor. Generalmente, este sistema se emplea en lugares con climas fríos, debido a que la función de la cubierta de polietileno es atrapar la energía radiante del suelo o de lechos de las lombrices y evitar las bajas

temperaturas. No obstante, una práctica habitual es la aplicación de melaza líquida diluida para aumentar la actividad biológica y proporcionar calentamiento en las camas de las lombrices durante cortos períodos de tiempo. Las camas están abiertas en la parte interior del invernadero y se sientan sobre arena. El tamaño del sistema dependerá de la extensión del terreno (Biernbaum, 2015) (Figura 7 e).



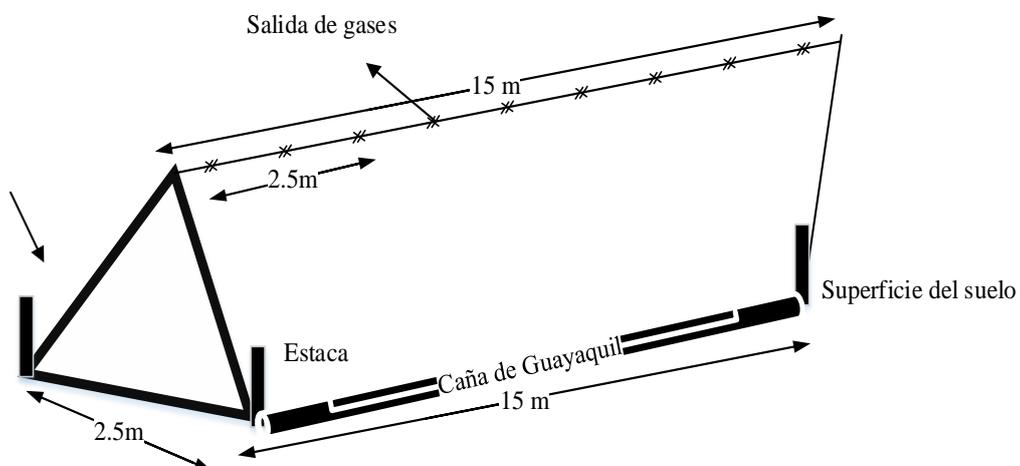
**Figura 7. Sistemas tradicionales: (a) litera (b) contenedores. Sistema de alimentación continua: (c) verticales y circulares modulares (d) mecanizados. Sistema invernadero (e) túnel alto o invernadero solar**

Fuente: Fernández (2011) y Biernbaum, (2015).

#### d. Vermicompostaje de techo a dos aguas

El INIA (2013), ha propuesto una nueva técnica denominada: diseño de “techo a dos aguas”: este modelo es una variante de la lombricultura piramidal propuesta por el profesor Chanduvi García catedrático de la Universidad de Piura, Perú, esta innovación tecnológica se basa en la cría intensiva de lombrices a partir de un sustrato orgánico, donde el principio fundamental es la generación de competencia por el alimento (compost) entre estos organismos.

La metodología se ha trabajado con la demarcación de áreas de 2,50 m de ancho y 10 o 15 metros de largo, en los extremos se insertan estacas con longitudes de 1,40 y 0,10 m, sobre las estacas centrales se coloca una caña de Guayaquil de longitud de la pila (15m), está se sujetará a las estacas laterales mediante un cordel que se extiende por la parte superior hacia el otro extremo dando la forma de techo a dos aguas. Lateralmente se colocan cañas de Guayaquil equidistantes que tienen la función de chimeneas al igual que la caña de mayor longitud como se aprecia en la Figura 8 (INIA, 2013).



**Figura 8. Estructura de camas de compostaje “techo a dos aguas”**

Fuente: INIA (2013).

#### 2.7.3 Características requeridas para el proceso de vermicompostaje

El vermicompostaje podría ser afectado por una elevada densidad de lombrices con lo cual provocaría una competencia entre los individuos que a su vez prolongarían el proceso. Se debe tener en cuenta que, en condiciones naturales, la colonización se encuentra controlada en sus parámetros mientras que, en condiciones artificiales, estos organismos presentan una dinámica muy diferente debido al gran aporte de alimento y a que las condiciones ambientales suelen estar controladas, razón por la cual se debe lograr y mantener un

control de los parámetros dentro de las vermicomposteras. Ferruzzi (1987) indica en su manual un estimado de la reproducción de *Eisenia foetida* como se detalla en el Cuadro 7.

**Cuadro 7. Estimado de la reproducción semanal de *Eisenia foetida*.**

Cocones semanales producidos	Número de semanas				
	1ª semana	13ª semana	26ª semana	39ª semana	52ª semana
2	4	4	108	324	972
3	6	6	240	960	3840
4	8	8	424	2120	10600
5	10	10	660	3960	23760
6	12	12	948	6636	46452
7	14	14	1288	10304	82432
8	16	16	1680	15120	136080
9	18	18	2124	21240	212400

Fuente: Ferruzzi (1987).

#### **a. Residuos orgánicos como fuente para vermicompostaje**

Debido a la gran resultante de residuos orgánicos se ha visto en el vermicompostaje una opción para su tratamiento, en base a ello diferentes tipos de residuos sólidos orgánicos como estiércoles, lodos de plantas depuradoras, residuos vegetales, lodos industriales, residuos agrícolas entre otros, han sido empleados en su obtención cada uno con diferentes resultantes en base a su caracterización físico química realizadas (Patidar *et al.*, 2013; Uribe *et al.*, 2001; Silva de Mendonza Costa *et al.*, 2015).

Lim *et al.* (2016) indica que las lombrices pueden consumir materiales orgánicos que tienen un pH en el rango de 5 a 8, contenido de humedad entre 40 - 55 % y la relación C/N inicial alrededor de 30. Algunos residuos pueden ser vermicompostados sin la necesidad de ser mezclados unos con otros. Sin embargo, otros residuos orgánicos para ser consumido por estos deben previamente ser modificados mezclándolos con otro tipo de material o con un pretratamiento. Cabe destacar que las lombrices de tierra en el vermicomposteo también asimilan una parte de la materia orgánica para su crecimiento y reproducción (Lv *et al.*, 2013).

En la mayoría de los estudios de vermicompostaje, una práctica común es tratar previamente los desechos orgánicos volteándolos, al menos manualmente, para eliminar los gases volátiles que son tóxicos para las lombrices de tierra y así como también, controlar parámetros como: alta humedad y conductividad. Por ejemplo, el estiércol seco de vaca es empleado comúnmente como una enmienda; sin embargo, cuando este insumo

se emplea en su estado fresco es desfavorable para el crecimiento de las lombrices de tierra razón por la cual se debe dar un pretratamiento y volteándolo periódicamente como parte del mismo (Lv *et al.*, 2013).

Este estiércol previamente tratado puede ser utilizado solo o mezclado con otros residuos orgánicos para el proceso de vermicompostaje (Romero *et al.*, 2006). La eficiencia del proceso a la vez está influenciada por varios factores, principalmente por la naturaleza de los residuos orgánicos, contenido de humedad, relación C / N inicial, pH. En comparación con el proceso de compostaje, todos los factores que influyen en el proceso de vermicompostaje están ligados también a la especie de lombriz que se utiliza durante el proceso de biodegradación. A continuación, se detallan algunos ejemplos en el Cuadro 8.

**Cuadro 8. Bioconversión de residuos de estiércol vacuno, residuos domésticos y de jardín empleando *Eisenia foetida***

Parámetros	Estiércol vacuno	Residuos domésticos	Residuos de jardín
pH	8,1 ±0,06 <sup>c</sup>	7,2 ±0,04 <sup>b</sup>	6,3 ±0,06 <sup>a</sup>
Humedad (%)	2,6 ±0,04 <sup>b</sup>	3,1 ±0,08 <sup>b</sup>	2,7 ±0,10 <sup>a</sup>
Carbono orgánico total (%)	18,4 ±1,16 <sup>b</sup>	13,3 ±0,31 <sup>b</sup>	11,7 ±0,24 <sup>a</sup>
Humus (%)	64,1 ±0,94 <sup>c</sup>	63,9 ±1,99 <sup>b</sup>	68,7 ±0,91 <sup>a</sup>
Nitrógeno (%)	1,97 ±0,07 <sup>c</sup>	1,30 ±0,02 <sup>b</sup>	1,02 ±0,07 <sup>a</sup>
Fósforo (%)	0,62 ±0,03 <sup>c</sup>	0,50 ±0,02 <sup>b</sup>	0,37 ±0,03 <sup>a</sup>
Potasio (%)	0,88±0,18 <sup>c</sup>	0,50 ±0,02 <sup>b</sup>	0,60 ±0,02 <sup>a</sup>

Fuente: Wani *et al.* (2013).

Se ha demostrado que el uso de humus de lombriz o vermicompost mejora y recupera la estructura de la comunidad microbiana perturbada del suelo debido a actividades antropogénicas, permitiendo tener mayor productividad, rendimiento y diversidad funcional microbiana (Maji *et al.*, 2017).

#### **b. Interrelación microorganismos-lombrices**

Karaca (2011) señala que las interacciones que se producen tanto entre las lombrices y los microorganismos en el suelo pueden ser evaluadas a nivel de tres escalas espaciales: 1) interacciones a nivel de microescala, se producen en el intestino de la lombriz de tierra o en el intestino, madriguera revestimiento o moldes y contiene los cambios en actividades enzimáticas relativas a características nutrientes de los alimentos que se consumen, 2) interacciones a nivel de mesoescala, es aquí donde se restringe a los cambios que registrarán las actividades microbianas que se producen en el intestino de la lombriz de tierra, excrementos, o sustrato y 3) interacciones a nivel de macroescala, definen los cambios

físico-químicos del suelo características debido a las actividades de la lombriz de tierra, afectadas por los factores agrícolas y ambientales.

Las funciones que desempeñan tanto las lombrices como los microorganismos son diferentes, mientras que los últimos durante el proceso de vermicompostaje se encargan de la degradación bioquímica de la materia orgánica, las lombrices toman a cargo el acondicionamiento mecánico del sustrato, movilizándolo y homogeneizando fragmentos ricos en bacterias, estimulando por ende la actividad microbiana e incrementando la superficie expuesta a los microorganismos (Domínguez *et al.*, 2003).

Chang *et al.* (2016) describen que las lombrices al actuar como mezcladores mecánicos podrían causar en base a su actividad consecuencias positivas, negativas o neutrales sobre las comunidades microbianas del suelo. Tanto la fauna y microflora del suelo se ven influenciadas por las actividades de trituración, madriguera, fundición y dispersión que ejercen estos anélidos. Las tasas de descomposición y actividad biológica son afectadas por su físico inducido. Estos organismos pueden afectar indirectamente a los microorganismos del suelo con solo cambiar la disponibilidad de recursos o desplazando el carbono y el nitrógeno a través de su movimiento y alimentación.

Como consecuencia positiva, Parthasarathi y Ranganathan (1999) encontraron que en las especies *Lampito mauritii* y *Eudrilus eugeniae*, el mayor incremento de la población y actividad microbiana en sus deyecciones recién depositadas, fueron el resultado de las concentraciones de sustratos ricos en nutrientes, la reproducción de microorganismos después de pasar por el intestino, óptimo nivel de humedad y gran superficie de las deyecciones, las mismas que fueron adecuadas para mejorar la alimentación y reproducción de los microbios. Una de las amplias fuentes de donde las lombrices reciben su alimento son las excretas de animales las cuales son microambientes ricos en microorganismos en los cuales las bacterias constituyen la fracción más grande, conjuntamente con hongos, organismos presentes principalmente como esporas. Se puede decir que, las primeras etapas de descomposición de estos residuos orgánicos están dominadas principalmente por bacterias debido a la disponibilidad de agua y sustratos fácilmente degradables.

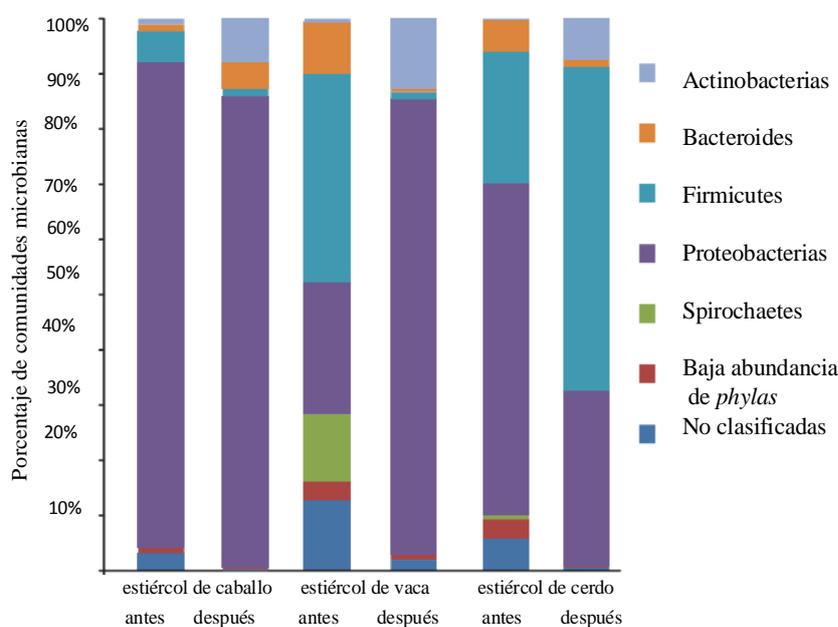
Sin embargo, las actividades de las lombrices de tierra afectan las tasas de crecimiento bacteriano en mayor medida que la tasa de crecimiento de hongos. Pero al mismo tiempo

se puede decir que la disponibilidad de carbono también es un factor limitante para el crecimiento de las lombrices de tierra. Debido a que las lombrices y los microorganismos podrían competir por fuentes de carbono. En cuanto a lo que respecta a la alta movilidad del nitrógeno se podría decir que este elemento es no limitante en la nutrición de las lombrices particularmente en las especies endógenas. Sin embargo, el impacto de las lombrices de tierra en la mineralización y la lixiviación de nitrógeno depende de la disponibilidad de carbono (Tiunov y Scheu, 2004).

El intestino de la lombriz ha sido descrito como un " sistema digestivo mutualista " en la que las producidas por microorganismos ingeridos mejoran la degradación de la materia orgánica compleja durante su paso por el intestino y de esta manera se mejora la capacidad de las lombrices para asimilar los nutrientes. Las especies comunes de grupos ecológicos de lombrices fomentan el desarrollo de distintos tipos de paredes intestinales asociada a comunidades bacterianas y a la abundancia relativa de bacterias específicas dentro del intestino de las lombrices, incluyendo Proteobacteria, Firmicutes y Actinobacterium (Shah, 2016).

La fase acuosa del contenido estomacal puede contener más de 100 mM de glucosa probablemente derivados de la hidrólisis y degradación de la mucosidad secretada en el conducto alimentario. Altas cantidades de amino azúcares y maltosa pueden estar presentes en el contenido estomacal. Los cuales se tornan ideales para el metabolismo anaeróbico de los microorganismos del suelo ingerido. Por otro lado, la presencia de un gran número de ácidos grasos volátiles, por ejemplo; formiato, acetato, succinato y lactato, en el intestino estimulan a que los procesos de fermentación se produzcan. Las concentraciones de nitratos y nitritos son inferior y superior, respectivamente, en el intestino de la lombriz de tierra que, en el suelo, lo que sugiere que el nitrato es sometido a procesos reductivos en el intestino. El amonio y los aminoácidos son abundantes en el intestino y teóricamente mejorarían el anabolismo de los microorganismos del suelo ingerido (Drake y Horn, 2007).

A continuación, en la Figura 9, se muestra la composición del *phylum* de bacterias encontradas en *Eisenia andrei* antes y después de ser digeridos los estiércoles de caballo, vaca y cerdo. No obstante, los cambios en la abundancia dependen del *phylum* y del tipo de estiércol. Con referencia a las proteobacterias registradas en el estiércol de vacuno se cuantificó, antes 24 después 82 % (interacción tipo de estiércol y tránsito a través del tracto digestivo) con un  $p < 0,001$ .



**Figura 9. Composición de las comunidades bacterianas (porcentaje de *phylum*) en los estiércoles de (caballo, vaca y de cerdo) antes y después de ser digeridos por la lombriz *Eisenia andrei***

Fuente: Aira *et al.*, (2015).

Monroy *et al.* (2008) en su investigación señala que las lombrices son capaces de digerir a nemátodos presentes en el estiércol de porcino, a su vez registró una alta presencia de cutículas de estos organismos en las muestras de intestino de las lombrices. Esta digestión podría ser el resultado de la actividad proteolítica que ejercen las enzimas presentes en el intestino de las lombrices, las cuales a su vez permitirían que las lombrices asimilen aminoácidos y otros compuestos de los nemátodos.

No existe evidencia directa que indique que las lombrices puedan alimentarse de nemátodos. Sin embargo, la aplicación de nematicidas tiene un efecto negativo sobre las poblaciones de lombrices de tierra que puede sugerir una relación trófica entre estos organismos (Domínguez *et al.*, 2010). En su investigación Domínguez *et al.* (2003), describen que la densidad de nemátodos bacterívoros se incrementó con el tiempo tanto en estiércol de vaca como en lodo de aguas residuales en la ausencia de *Eisenia andrei*, mientras que en presencia de este organismo la densidad de nemátodos bacterívoros disminuyó en ambos sustratos. Neuhauser *et al.*, (1980) citando a Monroy *et al.*, (2008) trabajando con protozoarios han podido constatar que *Eisenia foetida* puede crecer con estos organismos como única fuente de alimento, lo que a su vez permitiría expresar que estos organismos constituyen una parte importante de la dieta de las lombrices

Otros estudios describen efectos sobre la microfauna, en los cuales la presencia de *coliformes totales*, que son microorganismos descritos por Zhu (2000) como aeróbicos o facultativamente anaerobios, con tipos de metabolismo respiratorios y fermentativos, fueron reducidos por las lombrices epigeas, lo que indica que el tránsito intestinal en las lombrices tiene un efecto importante sobre la composición microbiológica de los purines (Monroy *et al.*, 2008).

En lo que respecta a bacterias anaerobias fijadoras de nitrógeno como lo son (*Clostridium butyricum*, *Clostridium beijerinckii* y *Clostridium paraputrificum*) han sido aislados de la cavidad gastrointestinal de *Eisenia foetida* (Citernesi *et al.*, 1977). Aunque ha sido escasamente estudiada la presencia de microorganismos anaerobios y facultativos se podría decir que el intestino de la lombriz puede abrigar micrositios anaerobios móviles en los cuales se desarrollan éstos.

En estudios realizados en las especies *Lumbricus rubellus* y *Lacteum Octolasion* se encontró en el intestino de éstas un potencial crecimiento microbiano casi equivalente al de los suelos extraídos tanto aeróbico como anaeróbico, siendo mayor *L. rubellus* (Karsten y Drake, 1995).

En medios específicos de cultivo se ha registrado el contenido de microorganismos por gramo de peso del contenido intestinal de la lombriz, así como también el número registrado en el suelo se detalla en el Cuadro 9. Llegando hasta el punto de cuantificar hasta 4000 veces más microorganismos que en el suelo.

**Cuadro 9. Contenido de microorganismos registrados en el intestino de *Eisenia foetida* y en el suelo**

Condición del cultivo	Grupo Microbiano	Microorganismos por peso seco			
		Intestino	Suelo	Relación I/S	Referencias
Placas de Oxic agar	Aerobios generales	$5 \times 10^7$	$4 \times 10^6$	12	Kristufek <i>et al.</i> (1993).
Placas de Oxic agar	Aerobios generales	$8 \times 10^8$	$2 \times 10^7$	40	Karsten y Drake (1995)
Rollo de tubos de agar anóxico	Anaerobios generales	$2 \times 10^9$	$5 \times 10^5$	4000	Karsten y Drake (1995)
Caldo anóxico	Desnitrificadores	$7 \times 10^7$	$3 \times 10^5$	230	Karsten y Drake (1997)
Caldo anóxico	Anaerobios generales	$7 \times 10^8$	$7 \times 10^7$	10	Karsten y Drake (1997)

Fuente: Adaptado de Drake y Horn (2007).

## 2.8 Control biológico de enfermedades en las plantas

Domínguez *et al.* (2010) señalan que el vermicompost tiene efectos notables en la supresión de patógenos vegetales que producen podredumbre y necrosis radicular en plantas de cultivo. Las comunidades fúngicas en el suelo pueden ser afectadas por las lombrices de tierra, las cuales pueden influir en la germinación de las esporas y la creación de micrositios desfavorables para el desarrollo de los hongos. Sin embargo, Brown (1995), describe que, este efecto propiciado por las lombrices no siempre es uniforme y varía según su categoría ecológica y especie. A pesar que la actividad de la lombriz en el suelo está influenciada por varios factores, a menudo se observa la supresión de enfermedades favorablemente.

Los mecanismos que involucran la supresión de enfermedades por actividad de la lombriz incluyen: la influencia sobre las comunidades microbianas del suelo, la actividad enzimática, la producción de compuestos antifúngicos, las propiedades fisicoquímicas y la resistencia sistémica de las plantas. Sin embargo, se debe tener en consideración que un mecanismo puede o no puede ser exclusivamente responsable de llevar a cabo el nivel deseado de supresión de la enfermedad ya que es un proceso complejo influenciado por muchos otros factores (Domínguez *et al.*, 2010).

De igual manera, Brown (1995) comprobó las propiedades bioplaguicidas del vermicompostajes contra hongos patógenos que producen podredumbre en los cultivos de tomate como lo son: *Plasmidiophora brassicae*, *Phytophthora nicotianae* y *Fusarium lycopersici*. Así como, también, Chaoui *et al.* (2003) demostraron significativas reducciones en los ataques de enfermedades por hongo *Pythium* en pepinos y *Rhizoctonia* en rábanos a nivel de invernadero.

### a. Incremento de la actividad enzimática

Una de las principales actividades enzimáticas influenciada por las lombrices en el suelo es la actividad de la enzima quitinasa, la cual desempeña un papel importante en la supresión de patógenos fúngicos transmitidos por el suelo, estas enzimas digestivas que hidrolizan los enlaces glucosídicos  $\beta 1-4$  de los residuos de N - acetilglucosamina en la quitina. El uso de enzimas metabolizadoras de quitina y de inhibidores de síntesis de quitina, ya sea individualmente o en combinación, para detener el metabolismo de la quitina en los hongos ha atraído la atención de varios investigadores ya que son esenciales

para la degradación de la quitina, un componente importante de la pared celular fúngica (Ersahin, 2011).

#### **b. Acción como bioindicadores**

Las lombrices son organismos tanto resistentes como sensitivos a los contaminantes, capaces de acumular químicos y altas concentraciones dentro del sustrato contaminado en el que se encuentran. Son relativamente sedentarias cuya migración natural es en promedio 5 metros por año. En las dos últimas décadas se ha visto una rápida expansión en la investigación aplicando lombrices en estudios ecotoxicológicos (Domínguez *et al.* 2010).

Para los cuales se han desarrollado pruebas estandarizadas de toxicidad aguda como, por ejemplo: ISO 11268 - 1, o a través de pruebas ecológicamente subletales como la prueba de toxicidad de reproducción 11268 - 2. Su potencial bioindicador en la evaluación ecológica basada tanto a nivel de campo y laboratorio, ha sido ampliamente reconocido hoy en día pues permiten un rápido diagnóstico de los efectos contaminantes (Karaca, 2012).

### **2.9 Vermicompost en el cultivo del rábano**

#### **a. *Raphanus sativus***

El rábano cuyo nombre en latín es *Raphanus sativus* pertenece a la familia *Brassicaceae* y es un cultivo vegetal de raíz gruesa y carnosa, de tamaño y forma variables, de piel color roja, rosada, blanca u oscura; según la variedad posee hojas basales, pecioladas, lámina lobulada con uno a tres pares de segmentos laterales con bordes dentados (Sotelo *et al.*, 2012).

Este cultivo es muy importante alrededor del mundo, especialmente en países como China, Japón, Corea y Sudoeste de Asia, debido a su gran contenido nutricional, así como también, por su amplia adaptación y alto rendimiento. Las principales propiedades nutricionales del *Brassicaceae* son su materia seca, fibra cruda, su contenido soluble total de azúcares, vitamina C, proteínas y nitratos (Zhao-liang *et al.*, 2008).

El rabanito ha sido utilizado en la medicina tradicional China por más de 1400 años, según lo registra el “Tang Materia Medica” que es la primera farmacopea China. Cada una de sus partes desde la semilla hasta sus hojas son empleados para usos etnofarmacológicos (Choi *et al.*, 2016).

Hay ciertas subespecies que reciben nombres comunes, por ejemplo; a *R sativus var sativus L.*, se la conoce como rabanio o rabanito y *R sativus var Longipinnatus* como rábano blanco, rábano japonés o daikon. Se desarrolla bien en climas medios y húmedos del trópico con una temperatura óptima de 18 a 22 °C; su ciclo productivo es corto y puede variar entre 20 y 70 días, según la variedad; se adaptan a cualquier tipo de suelo pero los suelos profundos, arcillosos y neutros son los ideales (Barillari *et al.*, 2006).

Varios reportes atribuyen los múltiples efectos beneficiosos de una dieta basada en Brassicaceae. Puesto que en la mayoría de estas se ha determinado la presencia de un tipo característico de compuestos llamado glucosinolatos (GLs), que son hidrolizados a isothiocianatos (TICs) por mirosinasa vegetal (glucohidrolasa tioglucósido) en la microflora intestinal. Estos compuestos previenen el cáncer y enfermedades degenerativas por aumento celular como mecanismo intrínseco que desactiva potenciales carcinógenos o sustancias tóxicas (Barillari *et al.*, 2006).

#### **b. Cultivo del *Raphanus sativus L***

Ríos (2003) manifiesta que la mayoría de estudios realizados sobre la influencia de las lombrices en el crecimiento de las plantas, han reportado resultados satisfactorios sobre el desarrollo. Se ha demostrado que las lombrices producen un incremento de producción de retoños, granos, semillas, hojas en diferentes cultivos en ensayos de campo y en pruebas de invernaderos. Se empleó *Raphanus sativus L.* como modelo biológico para la evaluación del humus obtenido.

El efecto de la inoculación de microorganismos benéficos que pueden estimular el crecimiento en plantas, ha sido de gran interés para la producción de bioinsumos en las últimas décadas. Al inocular cepas de *Azotobacter sp.*, *Bacillus pumilus* y *licheniformis* en un cultivo de rábano (*Raphanus sativus L.*), aisladas a partir de compost. Se obtuvo que los tratamientos inoculados con *B. licheniformis* dos veces a la semana por aspersión, con un intervalo de 15 días demostraron tener mayor eficiencia en cada una de las variables estudiadas: longitud de las plantas, número de hojas y peso seco del sistema radicular (Sotelo *et al.*, 2012).

Srinivasan y Mathivanan (2011) describen que en lo que respecta a la aplicación de consorcios microbianos, se han realizado estudios sobre promotores del crecimiento de las plantas en formulación líquida constituídos por mezclas de *Bacillus licheniformis sp.*,

*Bacillus* sp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptomyces fradiae*. A continuación, en el Cuadro 10, se detallan las características para la siembra de *Raphanus sativus* L.

**Cuadro 10. Uso del vermicompost en horticultura del *Raphanus sativus* L**

Características de las semillas	
Número de semillas contenidas en 1 g	120
Duración de la facultad germinativa (años)	3-5
Días que emplea para germinar	5-6
Cantidad de semillas necesarias	
1 área de siembra (g/100 m <sup>2</sup> )	300
Distancia de las siembras	
En la fila (cm)	10
Cantidad media de plantas por área	5000
Extracción de principios fertilizantes por ha	
N (kg)	130
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (kg)	50
K <sub>2</sub> O (kg)	200

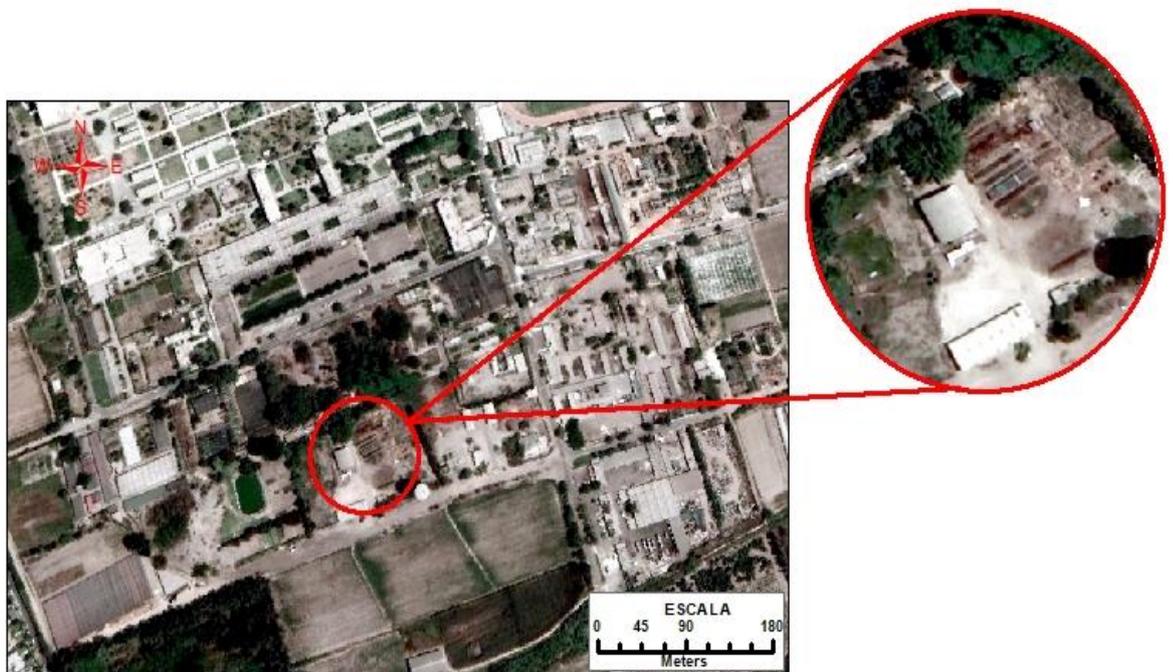
Fuente: Compagnoni y Putzolu (2001).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Zona de estudio

La investigación tanto a nivel de laboratorio y escala piloto se desarrolló en el Centro Modelo de Tratamiento de Residuos (CEMTRAR) ubicado en el campus de la UNALM (Figura 10). Las condiciones climáticas del campo de experimentación se relacionan a una zona árida con una temperatura promedio entre 22 a 26 °C para temporada de verano y con precipitaciones anuales promedio de 5 mm (Córdoba, 2007).

La caracterización fisicoquímica y biológica de la materia prima y de los productos resultantes se realizó en la unidad de microbiología de suelos del Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes (LASPAF), al igual que en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso" ubicados en la UNALM.



**Figura 10. Vista panorámica del Centro Modelo de Tratamiento de Residuos (CEMTRAR)**

## **3.2 Fase experimental I: Pretratamiento**

Se realizó la caracterización fisicoquímica y biológica de la materia prima, se aplicó dos pretratamientos durante seis semanas (inoculación microbiana) y (lavado de excretas) para reducción de su salinidad. Para la inoculación microbiana, se procedió a la propagación y caracterización biológica del consorcio de microorganismos benéficos, para el lavado de excretas se realizó el análisis fisicoquímico del agua de riego empleada con la finalidad de conocer su concentración de sales.

### **3.2.1 Preparación y caracterización de materia prima para el pretratamiento**

#### **a. Recolección de materia prima**

Las excretas se recolectaron del establo lechero de la UNALM, su porcentaje de humedad osciló entre el 30 y 40 %. La excreta se homogeneizó en el campo realizando volteos. Se consideró que la materia prima era similar, debido a que ésta provino de los mismos animales, que reciben siempre la misma alimentación. La fórmula de alimentación del ganado vacuno se presenta en el Cuadro 2.

#### **b. Armado de pilas**

La excreta se trasladó al CEMTRAR y se colocó sobre plástico. Se levantaron dos pilas (TA y TB) con un contenido individual de 3 t de excreta de vacuno con dimensiones de 9 m de largo x 3 m ancho x 1 m de alto.

#### **c. Caracterización fisicoquímica y biológica de las excretas para el pretratamiento**

Para la caracterización fisicoquímica de la excreta cruda se determinó: pH, CE, relación C/N, % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, % K<sub>2</sub>O, % Ca, % MgO y % Na.

El muestreo se realizó teniendo como referencia la norma austriaca (Ö-NORM S 2023. 1993). Se tomó una muestra homogenizada de alrededor de 500 g. La excreta fue pesada y secada a 70 °C hasta alcanzar peso constante durante aproximadamente 24 - 48 horas, para determinar el contenido de humedad. La materia seca fue molida y homogeneizada para el análisis químico.

En el LASPAF aplicando los protocolos del laboratorio se midió: el potencial de hidrógeno y conductividad eléctrica (CE) en extracto acuoso relación (1:10) m/v. Los

valores fueron cuantificados empleando un multiparámetro Consort C860®. El contenido de materia orgánica se determinó con el método de calcinación o pérdida por ignición (Loss on Ignition, LOI) sugerido por BGBI, II Nr. 292/2001. Al no existir un método de laboratorio aproximado. Se evaluó el contenido de carbono acorde a sugerido por BGBI, II Nr. 292/2001 partiendo de la resultante de la pérdida de calcinación; para compost de materia orgánica se empleó el factor de conversión TOC = pérdida de calcinación x 0,58, en base al método modificado por Bremmer (1965), mencionado en la norma austriaca (Ö - NORM S 2023. 2001).

El nitrógeno total se determinó por el método micro-Kjeldhal, posteriormente, porciones de materia seca molida fueron sometidas a digestión húmeda, empleando solución nitro-perclórica. La relación C /N se realizó en relación a la concentración porcentual de carbono total y el nitrógeno total. El P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> se determinó empleando digestión de humedad (Black *et al.*, 1965), en el espectrofotómetro (Thermo Scientific modelo Helios Epsilon), a 660 nm de longitud de onda. De la misma manera, a partir del extracto obtenido para el P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> se tomaron lecturas con el equipo de absorción atómica (Perkyn Elmer Analyst 200) para K<sub>2</sub>O, CaO, MgO y Na.

La metodología usada para la caracterización biológica de las excretas fue la propuesta por la comisión internacional sobre especificaciones microbiológicas para alimentos (ICMS, 1983) para la determinación de *Escherichia coli* (NMP g<sup>-1</sup>) y *Salmonella* sp., en 25g. Los análisis se realizaron al igual en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso". El recuento de UFC (actinomicetos, bacterias y hongos) se realizó en el (LASPAF) acorde a los procedimientos descritos en el punto 3.4.8. en los literales (d), (e) y (f).

### **3.2.2 Propagación y caracterización biológica del consorcio de microorganismos empleados en el pretratamiento**

#### **a. Propagación de microorganismos benéficos**

Los microorganismos benéficos fueron donados por el Departamento de Biología de la UNALM y provienen del aislamiento realizado por Alvarez, (2018). Para la investigación se preparó una solución madre a nivel de laboratorio acuerdo a lo sugerido por Meza (2009). A partir de esta solución se tomó 200 mL y se inocularon a un volumen de 2 L de un medio que contenía melaza, hígado y sal en proporciones que se especifican en el Cuadro 11.

**Cuadro 11. Insumos para la activación de microorganismos benéficos**

<b>Descripción</b>	<b>Cantidad</b>
Agua (L)	2
Melaza (%)	10
Hígado (%)	5
Sal (%)	1

Fuente: Meza (2009).

El cultivo obtenido fue dejado en reposo bajo condiciones ambientales y en ausencia de la luz directa, después de siete días, se obtuvo, el consorcio de microorganismos benéficos de color blanco marrón como se muestra en la Figura 11. A partir de esta primera propagación se obtuvieron volúmenes mayores para toda la investigación.



**Figura 11. Capa blanca marrón cremosa evidencia la propagación de la comunidad microbiana benéfica que conforma el consorcio madre**

Para la caracterización microbiológica del consorcio microbiano se realizó:

**b. Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables y ácido lácticas**

Los análisis biológicos de conteo de aerobios mesófilos viables (UFC mL<sup>-1</sup>) y bacterias ácido lácticas (UFC mL<sup>-1</sup>), en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso", aplicando el método de la comisión internacional sobre especificaciones microbiológicas para alimentos (ICMSF, 1983).

**c. Recuento de levaduras**

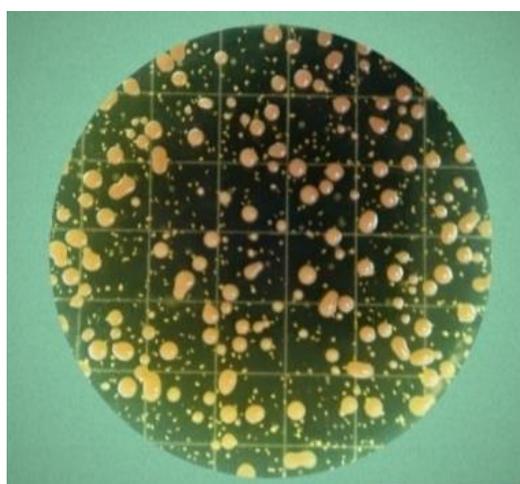
El recuento de levaduras (UFC mL<sup>-1</sup>) se realizó en la unidad de microbiología de suelos del (LASPAF).. Para el recuento de levaduras se preparó diluciones sucesivas desde -3 hasta -5. La solución nutritiva se preparó en base a los reactivos del Cuadro 12, se pesó, mezcló y esterilizó en un Erlenmeyer. Posteriormente, se cultivaba en una placa Petri 1 mL de la solución del consorcio de microorganismo benéficos con 12 mL del medio de cultivo Agar

Sabouraud. Finalmente, se incubó a 30 °C por un período de 48 horas para el conteo de las UFC de Levaduras (Figura 12).

**Cuadro 12. Reactivos para preparación de Agar Sabouraud**

<b>Reactivo</b>	<b>Cantidad</b>
Dextrosa (g)	10
Peptona (g)	5,00
Extracto de levadura (g)	2,50
Agar (g)	15,00
Agua destilada mL	1000

Fuente: Rojas, (2011).



**Figura 12. Desarrollo de colonias de levaduras en el consorcio de microorganismos benéficos**

### **3.2.3 Caracterización del agua de riego**

La caracterización del agua de riego se realizó para la determinación de su concentración de sales en el (LASPAF) se tomó 1 L de agua del volumen empleado en la experimentación (Figura 13 a). Se reguló el volumen de agua, bajo riego controlado empleando una cinta de aspersión (Figura 13 b) para evitar el desperdicio del recurso hídrico al usar manguera convencional, como se muestra en la Figuras 13 (c). La cinta microperforada de aspersión (tipo Santeno®, I) que se empleó tenía las siguientes características: diámetro interno de 28 mm, espesor de cinta de 0,24 mm y puntos de emisión espaciados cada 0,15 m.

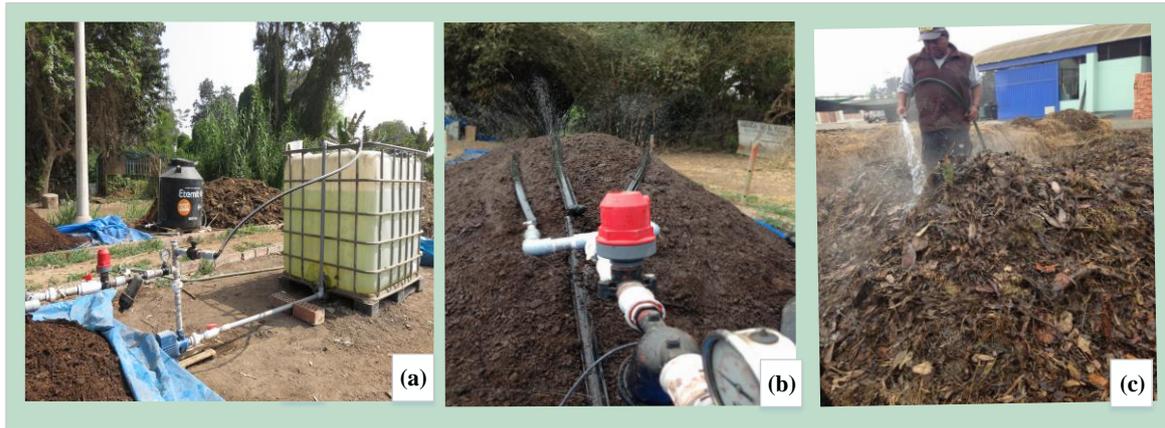


Figura 13. a) Riego controlado empleando manga aspersora. b) Riego convencional

### 3.2.4 Pretratamiento

- a. Pretratamiento: (TA) excreta lavada sin inoculación de microorganismos benéficos.**

Para el pretratamiento de la excreta de vacuno (TA) durante seis semanas se aplicó cada semana un volumen de 12 m<sup>3</sup> de agua, con el objetivo de disolver y remover la concentración de sales. El volteo de la pila se realizó semanalmente.

- b. Pretratamiento: (TB) excreta sin lavado con inoculación de microorganismos benéficos.**

Se aplicó la técnica de inoculación microbiana con el objetivo de evaluar la influencia de los microorganismos benéficos en la disminución de la CE, así como también, cuantificar el volumen de agua empleado. Durante las seis semanas, se volteaba e irrigó semanalmente y se mantenía la humedad regando con agua (6 m<sup>3</sup>). El consorcio de microorganismos benéficos se preparó siguiendo la metodología descrita en el punto 3.2.1. El consorcio se almacenó en un tanque plástico de volumen de 60 L, del cual fueron sustraídos los volúmenes necesarios para la inoculación dos veces por semana durante el pretratamiento. Se empleó la dilución 3:10 del consorcio en agua. La CE resultante fue de 0,33 dS m<sup>-1</sup> medidos en la dilución. El inóculo fue aplicado de manera manual y mientras se realizaba el volteo para permitir una mejor homogeneización de cada sección en la pila.

### 3.2.5 Medición de variables durante el pretratamiento

Durante el pretratamiento se controlaron las variables: CE, pH, relación C/N y temperatura siguiendo la metodología descrita en el punto 3.2.1. literal (c) en 300 g de muestra

homogenizada. El muestreo se realizó teniendo como referencia la norma austriaca (Ö-NORM S 2023. 1993) referente a métodos de ensayo y supervisión de calidad del compost (1.11.1993).

### **3.2.6 Fase experimental I: Compostaje**

Seguido al pretratamiento se continuó con el compostaje de TA (excreta prelavada) y TB (excreta inoculada) durante ocho semanas bajo la técnica de pilas en hileras a cielo abierto (Sauri *et al.*, 2002). No se empleó material de soporte (restos vegetales) para el proceso de compostaje de ambas pilas acorde a lo recomendado por Zhong *et al.* (2018).

#### **a. Compostaje Tratamiento (TA)**

Durante su compostaje se aplicó únicamente un volumen de 6 m<sup>3</sup> de agua semanalmente, para mantener un óptimo porcentaje de humedad.

#### **b. Compostaje Tratamiento (TB)**

Se continuó con su compostaje aplicando un volumen de 6 m<sup>3</sup> semanalmente y se continuó inoculando con el mismo consorcio de microorganismos benéficos en la relación (3:10) empleando agua destilada cada dos veces a la semana.

El volteo se realizó semanalmente de manera manual en TA y TB utilizando palas, con el objetivo de homogeneizar la excreta procurando que en los movimientos de las pilas el material perteneciente al núcleo de la pila de compostaje pase a formar parte de la corteza y éste del núcleo, lo cual influyó en su degradación favoreciendo los metabolismos aerobios.

### **3.2.7 Medición de las variables durante y después del proceso de compostaje de TA y TB**

Durante y después del proceso de compostaje se realizó el muestreo semanal siguiendo la norma austriaca (Ö-NORM S 2023. 1993) con referencia a los métodos de ensayo y supervisión de calidad del compost (1.11.1993). Tomando alrededor de 300 g de muestra se determinó:

### **a. Durante el compostaje**

La CE, el pH, y la relación C/N, fueron controladas siguiendo los procedimientos detallados en el punto 3.2.1 literal (c). Las temperaturas fueron tomadas a diario, desde el inicio del proceso, la pila se puntos a profundidades de 40 cm, utilizando un termómetro digital de varilla metálica.

### **b. Al término del período de compostaje**

La caracterización física, química y biológica de los compostes se realizó siguiendo la metodología descrita en el punto 3.2.1 en su literal (c).

Se determinó: CE, % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, % K<sub>2</sub>O, % Ca, % MgO y % Na. Empleando el método de fraccionamiento (Black *et al.*,1965) se cuantificaron los ácidos húmicos y fúlvicos, se agitó la muestra por una hora y se centrifugó en el equipo (IEC Size 2 Model K) por 25 minutos a 4500 rpm. Obtenido el precipitado, se procedió a secarlo para determinar las huminas. Finalmente, en el sobrenadante se determinaron los ácidos húmicos y fúlvicos.

La determinación de *Escherichia coli* (NMP g<sup>-1</sup>) y *Salmonella* sp., 25 g<sup>-1</sup>, se realizó al igual en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso". El recuento de UFC (actinomicetos, bacterias y hongos) se realizó en el (LASPAF) acorde a los procedimientos descritos en el punto 3.4.8. en los literales (d), (e) y (f) en ambos compostes obtenidos.

## **3.3 Fase experimental II: estimación del efecto de interrelación de Eisenia foetida con Bacillus sp., y microorganismos benéficos sobre su crecimiento, desarrollo y las características fisicoquímicas y biológicas del vermicompost enriquecido**

### **3.3.1 Producción de inóculo para el proceso de vermicompostaje**

La cepa de *Bacillus* sp., donada por el departamento de Biología de la Facultad de Ciencias fue utilizada para la obtención del inóculo experimental. En condiciones estériles se tomaba del tubo inclinado con un asa de Kölle, una muestra de la cepa y se lleva a un matraz Erlenmeyer de 250 mL que contenía 50 mL de caldo nutritivo. Se dejaba incubar por 24 horas a 37°C y se utilizaba como inóculo para un cultivo de 500 mL que sería utilizado en la investigación. Mientras que para el consorcio microbiano se procedió su propagación como se indicó anteriormente en el punto 3.2.1.

**a. Recuento de *Bacillus* sp., UFC mL<sup>-1</sup> en solución inoculante empleada en el vermicompostaje**

Se tomó 10 mL de un volumen de 16 L de un cultivo homogeneizado de *Bacillus* sp., preparado semanalmente para la inoculación de las 36 unidades experimentales de vermicompostaje laboratorio y a escala piloto. Las diluciones sucesivas fueron realizadas desde 10<sup>-8</sup> hasta 10<sup>-10</sup>, debido a la cantidad significativa de UFC en las pruebas previas realizadas con diluciones menores y se plaqueó por triplicado por incorporación con agar nutritivo. Se incubó a 30 °C por 24 horas, luego de lo cual se observó la presencia de UFC de *Bacillus* sp., e inmediatamente se realizó la cuantificación promedio de las cepas de *Bacillus* sp., la cual fue de 35 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>.

**b. Inoculación de *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos a nivel laboratorio y escala piloto**

Se utilizó 50 mL de un cultivo homogeneizado de *Bacillus* sp., como del consorcio de microorganismos benéficos por cada kg de sustrato (Das *et al.*, 2016) y (Recalde *et al.*, 2013). Su inoculación se realizó manualmente una vez por semana a nivel de laboratorio y escala piloto, en el Cuadro 13, se detalla el volumen de inoculación empleado por unidad experimental.

**Cuadro 13. Volumen inoculado en la experimentación en los tratamientos de vermicompostaje**

Área experimental	Volumen de microorganismos empleado	
	<i>Bacillus</i> sp.,	microorganismos benéficos
A nivel de laboratorio 5 kg	250 L	250 L
A escala piloto 20 kg	1 L	1 L

**3.3.2 Sustrato empleado a nivel de laboratorio y escala piloto**

Se empleó 5 kg de compost para la experimentación a nivel de laboratorio y escala piloto procedente de los tratamientos TA y TB.

**3.3.3 Instalación de camas a nivel de laboratorio y a escala piloto para proceso de vermicompostaje**

En el CEMTRAR se procedió a la medición, señalización y levantamiento de las estructuras para experimentación tanto a nivel de laboratorio y a escala piloto. A nivel de

laboratorio para tener un mejor control de los parámetros de temperatura y de humedad, se cerró el área en sus laterales como se muestra en la Figura 14 (a) mientras que a escala piloto no se procedió a cerrar los laterales del área de experimentación Figura 14 (b).



**Figura 14. Estructuras a) nivel de laboratorio. b) escala piloto**

#### **-Instalación de camas a nivel de laboratorio**

Se armaron 36 unidades experimentales; 12 por cada bloque incluidos los testigos. Sobre una maceta de fibra de vidrio de 50 cm x 45 cm. Para el sistema techo a dos aguas se cubrió y se colocó plástico en la bases (INIA, 2014) , como se observa en la Figura 15 (a), mientras que en el sistema en zanja cada unidad fue forrada con plástico 15 (b).

#### **-Instalación de camas a escala piloto**

Se armaron 36 unidades experimentales a escala piloto para la experimentación, empleando los mismos materiales, tanto para el sistema techo a dos aguas como se observa en la Figura 15 (c, d), mientras que en el sistema en zanja la unidad experimental fue forrada con plástico como se observa en la Figura 15 (e, f).



**Figura 15. Estructuras a nivel de laboratorio: (a) sistema techo a dos aguas (b) sistema en zanja. Estructuras a escala piloto (c y d) sistema techo a dos aguas; de 1m x 1m x 45 cm sobre la superficie cubierta con plástico (e y f) Sistema tradicional en zanja de 1 m x 1 m x 35 cm de profundidad cubierta con plástico**

### **3.3.4 Organismos empleados en la experimentación en laboratorio y a escala piloto**

#### **a. Pie de cría e inoculación de lombrices**

Para disponer de una población de lombrices homogénea para la experimentación a escala piloto y de laboratorio, para las diferentes pruebas, se criaron las lombrices en el CEMTRAR en seis lechos de 2 m de largo por 1 m de espesor empleando como sustrato compost producido en el CEMTRAR. Para los experimentos a escala piloto se emplearon 1000 lombrices adultas por unidad experimental tanto para el sistema techo a dos aguas

como para el sistema tradicional zanja, mientras que a nivel de laboratorio se usó 50 lombrices adultas por cada unidad experimental.

#### **b. Alimentación de lombrices**

Una sola dotación alimenticia de 5 y 20 kg procedentes del tratamiento TA (compost lavado) y TB (compost inoculado con microorganismos benéficos). Se aplicó para cada unidad experimental por el período de 40 días a escala piloto y 60 días a nivel de laboratorio. La dotación alimenticia se colocó a lo largo de las camas con una altura de 0,20 m de espesor, a escala piloto. Luego de alimentadas las lombrices se cubrió cada unidad experimental en zanja con una tabla de *plywood* de 5 mm de grosor y a nivel de superficie con el plástico negro correspondiente al sistema techo a dos aguas.

### **3.3.5 Estimación de densidad poblacional de lombrices al final de la experimentación a nivel de laboratorio y escala piloto.**

En base a la cuantificación de cada estamento poblacional se determinó a nivel de laboratorio y escala piloto la densidad poblacional de lombrices en cada unidad experimental. Se cuantificó cuatro estamentos poblacionales de *Eisenia foetida* (Schuldt, 2006): juveniles (animales recién eclosionados, transparentes o con una densidad de pigmento rojo, hasta aproximadamente 1,5 cm), subadultas (animales carentes de clitelo, mayores a 1,5 cm y generalmente con tallas inferiores a 3 cm), adultas (organismos con clitelo) y cocones (con contenido y sin contenido).

#### **a. Densidad poblacional a nivel de laboratorio**

A los 60 días se realizó el censo poblacional a nivel de laboratorio en el vermicompost obtenido tras inoculación de 50 lombrices en 5 kg de compost. Se cuantificó la suma total de los animales juveniles, subadultos, adultos y cocones presentes. Solo se realizó el cálculo de densidad nominal (Schuldt *et al.*, 2005).

#### **b. Densidad poblacional a escala piloto**

El censo poblacional se realizó a los 40 días de inoculadas las 1000 lombrices en las unidades experimentales a escala piloto. Se usó un extractor de base de 7,5 cm con un volumen de 421,8 cm<sup>3</sup>, con peines alargados (Schuldt, 2006) el extractor se introdujo al azar una vez homogenizado todo el sustrato de cada una de las unidades experimentales a manera de "saca bocado", en cinco diferentes puntos y se procedió a contar las lombrices y

clasificarlas en base a su estructura poblacional. A nivel de laboratorio se realizó el censo en los 5 kilogramos.

#### **-Densidad nominal poblacional a escala piloto**

Se obtuvo de la suma de los animales juveniles, subadultos, adultos y cocones extraídos por muestreo, considerando los cocones con el valor convencional de 1 (Schuldt *et al.*, 2005).

#### **-Densidad efectiva poblacional a escala piloto**

Es la resultate de sumar todos los organismos y cocones extraídos por muestreo con la diferencia de que a los cocones se les asigna su contenido real medio de 2,69 lombrices por cocón (Schuldt *et al.*, 2005).

### **3.3.6 Cosecha de vermicompost**

La cosecha se realizó después de los 40 días de iniciado el proceso a escala piloto y 60 días a nivel de laboratorio. Se pasó el humus por una malla de 8 mm con la finalidad de que el producto tenga una textura uniforme. Una vez cosechado el humus se almacenó en bolsas de polietileno con una humedad aproximada de 40 % para conservar sus propiedades y mantener vivos a los microorganismos. Posteriormente, el humus fue usado para el cultivo de rabanito (*Raphanus sativus* L).

### **3.3.7 Determinación de variables químicas durante el proceso de vermicompostaje**

Se monitoreo semanalmente las unidades experimentales de vermicompost manteniendo el nivel de humedad entre el 50 y 70 %. Se procedió a regar tres veces por semana los días (lunes, miércoles y viernes). Se empleó aproximadamente cuatro litros de agua por cama regados con una manga de riego (Santeno, I). Se ajustó la humedad a causa de las condiciones climatológicas de la época de verano, debido a que las lombrices requieren alta humedad para poder succionar el alimento. Los parámetros físicos como temperatura y humedad se controlaron a nivel de laboratorio, mientras que, a escala piloto se controlaron tanto los físicos químicos y biológicos según los procedimientos antes descritos para caracterización fisicoquímica del compost.

### 3.3.8 Determinación de características biológicas: determinación de UFC g<sup>-1</sup> de vermicompost

Los análisis microbiológicos se realizaron en la unidad de microbiología de suelos del (LASPAF). Para determinar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) se tomó entre 10 g de vermicompost procedente de las 36 unidades experimentales, estos fueron colocados en una botella de vidrio con 90 mL de agua desionizada previamente autoclavada, la mezcla se agitó por dos minutos, esta mezcla se constituyó en la dilución 10<sup>-1</sup> y consecuentemente se tomó 1 mL para obtener las diluciones sucesivas en tubos con agua desionizada autoclavada. De los tubos se tomó 1 mL de solución y se aplicó en placas Petri y sobre esta se agregó el medio de cultivo específico acorde al microorganismo en estudio como se detalla en el Cuadro 14.

**Cuadro 14. Medios de cultivo para microorganismos**

<b>Medio de cultivo</b>	<b>Microorganismo</b>
Agar Bacterias	Bacterias
Agar Martin	Hongos
Agar Nutritivo	<i>Bacillus</i> sp.,
Agar MRS	<i>Lactobacillus</i> sp.,
Agar Avena	Actinomicetos
Agar Pseudomonas (Merck)	<i>Pseudomonas</i> sp.,

#### a. Recuento de *Bacillus*

Se preparó diluciones sucesivas desde 10<sup>-7</sup> hasta 10<sup>-10</sup> por triplicado, debido a la cantidad significativas de UFC en las pruebas previas realizadas con diluciones menores. Se diluyó en un erlenmeyer 28 g de agar nutritivo, se enraso a 1L con agua destilada. Una vez enfriado el medio se procedió a colocar el agar en las placas.

Los cultivos se incubaron a 30 °C por un periodo de 24 horas, luego de este tiempo se cuantificaron las UFC de *Bacillus* sp., g<sup>-1</sup> de vermicompost, las colonias obtenidas se muestran en la Figura, 16 (a).

#### b. Recuento de *Lactobacillus*

Se trabajó con diluciones sucesivas desde 10<sup>-3</sup> hasta 10<sup>-5</sup> con 3 repeticiones. Para preparar la solución nutritiva se utilizó 68 g de agar MRS enrasados en 1 L de agua destilada, se procedió a plaquear y se incubó a 30 °C por un periodo de 36 horas, para luego cuantificar las UFC de *Lactobacillus* sp., g<sup>-1</sup> de vermicompost, las colonias obtenidas se muestran en la Figura 16 (b).

### c. Recuento de Pseudomonas

Se preparó diluciones sucesivas desde  $10^{-4}$  hasta  $10^{-7}$  por triplicado empleando 44,5 g de agar Pseudomona más 10 mL de glicerina. Se licuó el medio y se enfrió para posteriormente aplicar 12 mL por cada placa. Los cultivos se colocaron en una incubadora a 30 °C por un período de 24 horas, después del cual se observó la presencia de UFC de *Pseudomonas* sp.,  $g^{-1}$  de vermicompost las colonias obtenidas se muestran en la Figura 16 (c).

### d. Recuento de actinomicetos

En base a diluciones a la  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  con tres repeticiones se determinaron estos microorganismos. La solución se preparó a partir de agar avena (30 gramos de avena en hojuelas trituradas) más 15 g de agar agar. Autoclavado el medio y enfriado se adicionó 0,1 % de nistatina por cada litro de agua destilada. La mezcla de color blanquesina se vertió en las placas Petri y se incubó a 30 °C por un periodo de 10 a 15 días, luego de lo cual se observó la presencia de UFC de actinomicetos  $g^{-1}$  de vermicompost las colonias obtenidas se muestran en la Figura, 16 (d).

### e. Recuento de bacterias

Se preparó diluciones sucesivas desde  $10^{-4}$  hasta  $10^{-7}$ . Para la solución nutritiva se empleó los reactivos detallados en el Cuadro 15, verificando el pH entre 7,4 a 7,6. Se esterilizó el medio a 121 °C por una hora, después se vertió en placas Petri que contenían 1 mL de solución de vermicompost preparada. Los cultivos se colocaron en una incubadora a 30 °C por un periodo de 36 horas, luego de lo cual se realizó sin dificultad el conteo de las UFC de bacterias en el vermicompost y se verificó los respectivos valores, las colonias obtenidas se muestran en la Figura, 16 (e).

**Cuadro 15. Reactivos para preparación de 1 litro de medio de bacterias**

Reactivo	Cantidad
Glucosa (g)	1,00
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g)	0,5
MgSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O (g)	0,20
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O (g)	0,01
Peptona (g)	0,25
Agar (g)	15
Agua destilada mL	1000

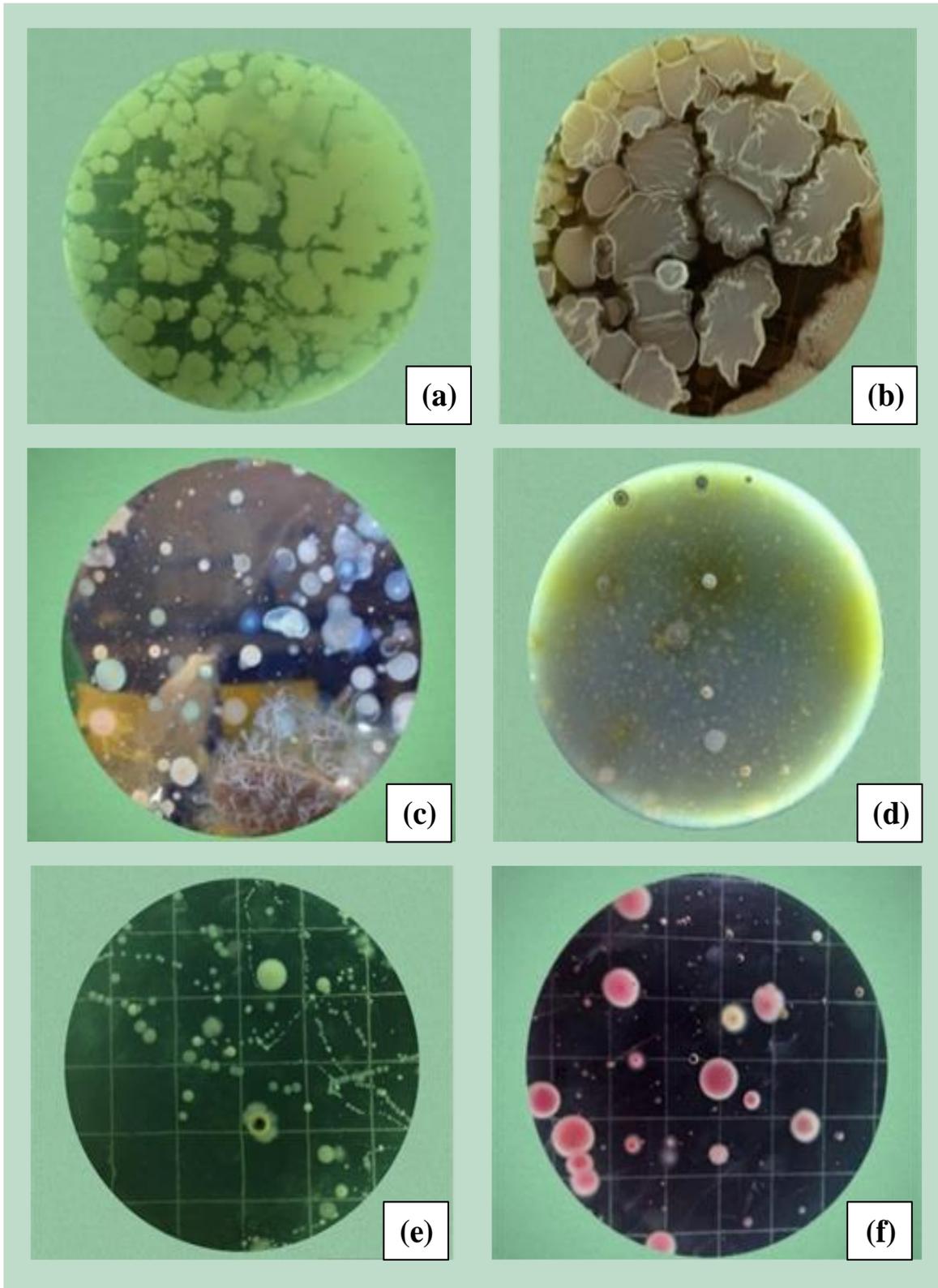
#### f. Recuento de hongos

Para el recuento de hongos de vermicompost en las muestras vermicompost, se preparó diluciones sucesivas desde  $10^{-3}$  hasta  $10^{-5}$ . La solución nutritiva para el cultivo se preparó con los siguientes reactivos descrito en el Cuadro 16 y regulando el pH a 5,6.

**Cuadro 16. Reactivos para preparación de 1 L de medio de cultivo Martin**

<b>Reactivo</b>	<b>Cantidad</b>
Glucosa (g)	1,00
Peptona (g)	5,00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (g)	1,00
MgSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O (g)	0,50
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O (g)	0,01
Rosa Bengala (g)	0,025
Agar (g)	20,00
Agua destilada mL	1000

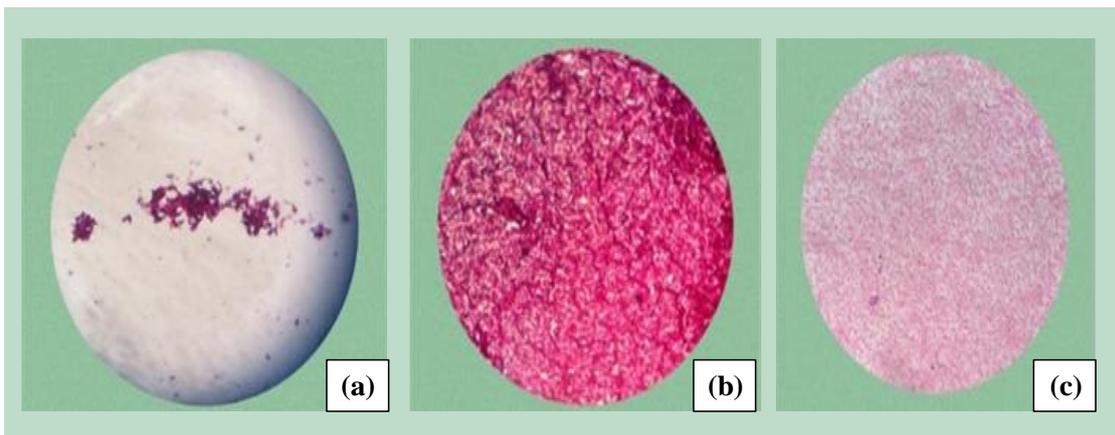
Se sembraron las muestras y se incubaron a 30 °C por un periodo de 72 horas, luego de lo cual se realizó sin dificultad el conteo UFC g<sup>-1</sup> de vermicompost y se verificó los respectivos valores, las colonias obtenidas se muestran en la Figura, 16 (f).



**Figura 16.** Desarrollo de colonias (a) *Bacillus* sp., (b) *Lactobacillus* sp., (c) *Pseudomonas* sp., (d) actinomicetos (e) bacterias (f) hongos en muestra de vermicompost obtenido después de 40 días.

**g. Observación macroscópica de microorganismos presentes en el vermicompost.**

Para corroborar la presencia de *Bacillus* sp., y *Pseudomonas* sp se realizó la tinción de Gram. Se colocó sobre un porta objeto la muestra con una gota de azul de metileno. Estas muestras se observaron en el microscopio (100X), se constató que en todas las placas existe la presencia *Bacillus* sp., Ver Figura 17 (a) y *Pseudomonas* sp., Figura 17 (b) y (c), los microorganismos observados no presentaron las mismas particularidades, por lo que se supone la existencia de varias especies.



**Figura 17. Observación microscópica de muestras: (a) de *Lactobacillus* sp., (b) *Pseudomonas* sp., en muestras de vermicompost producido a escala piloto**

**3.4 Fase experimental III: evaluación de la calidad del producto final vermicompost en invernadero y laboratorio**

**3.4.1 Incidencia del vermicompost obtenido sobre el cultivo del *Raphanus sativus* L. a nivel de invernadero**

**Preparacion del sustrato**

Se empleó una mezcla de vermicompost y arena como sustrato. La arena fue lavada y esterilizada en un horno 180 °C durante 48 horas como se muestra en la Figura 18 (a). La conductividad de la arena fue 0,47 dS m<sup>-1</sup>. Se colocó en latas de hierro forradas de aluminio para su esterilización.

Transcurridas las 48 horas se extrajo las latas con la arena colocándola en bolsas de propietileno para su empaquetado. Esterilizada la arena se pesó en la balanza (Patricks) y se mezcló manteniendo la relación 1:1 (2 kg de arena y 2 kg de vermicompost) como se observa la Figura 18 (b). La mezcla del sustrato se mezcló en macetas con capacidad de 5

kg con una dimensión de 20 cm de radio y 30 cm de altura. La mezcla se realizó un día antes de la siembra.



**Figura 18. (a) Tablero de control del horno de esterilización de arena (b) Pesaje de sustrato (c) Macetas con sustrato para experimentación en invernadero**

### **-Siembra**

La siembra se realizó en macetas con capacidad de 5 kg, colocando siete semillas de *Raphanus sativus* L., de manera equidistante en 4 kg de sustrato. Posteriormente se irrigó con 100 mL de agua tres veces a la semana (lunes, miércoles y viernes), la duración y frecuencia de riego dependió del estado fenológico de los rabanitos, así como también de las condiciones climáticas.

### **-Riego**

El contenido de humedad del sustrato (humus más arena), se utilizó el medidor de humedad TDR 100 como se aprecia en la Figura 19, el TDR 100 permitió controlar la humedad durante el periodo de evolución del cultivo. El riego controlado permitió generar una humedad entre el entre (60 y 70%) con la finalidad de evitar el lavado de nutrientes y riesgos fitosanitarios.



**Figura 19. Control de húmeda empleando el equipo TDR 100 en el modelo biológico *Raphanus sativus* L**

## **-Desarrollo del cultivo y desahije**

Realizada la siembra empezaron a brotar las primeras plántulas y junto a estas las primeras hojas de esta planta. Después de la germinación se procedió al desahije. De las siete plantas sembradas se verificó que cada maceta contuviese cinco plántulas, eliminando dos plántulas extras para tener uniformidad, Figura 20

### **a. Altura de *Raphanus sativus* L.**

Se determinó la altura en cada una de las cinco plantas del *Raphanus sativus* L. Por maceta se midió desde la base hasta el brote más alto de cada una de las cinco plantas que conformaban la unidad experimental (maceta) a los 15 y 30 días de la siembra y 45 días a la cosecha.



**Figura 20. (a) Brote de hojas del *Raphanus sativus* L. (b) Desahije de plántulas y (c) Registro de altura de plantas**

### **b. Dimensiones del hipocotílo después de la cosecha**

Se determinó el diámetro polar y ecuatorial del rabanito cosechado en centímetros empleando un vernier (Litz). El diámetro polar se midió desde la cicatriz del pedúnculo hasta el ápice del rabanito, Figura 21 (a). Mientras que para el diámetro ecuatorial se midió la parte central del rabanito, Figura 21 (b).



**Figura 21. *Raphanus sativus* L. (a) diámetro polar (b) diámetro ecuatorial**

### **c. Peso fresco y seco hipocotílo de *Raphanus sativus* L.**

Se registró el peso de los cinco hipocotílos cosechados. Seguidamente para evaluar su peso seco se procedió a cortarlos y se registró nuevamente su peso. Después de 72 horas de ingresarlos a la estufa (Venticell LSIS-B2V / VC 222) a 75 °C se registró su peso seco

### **d. Peso fresco de hojas del *Raphanus sativus* L.**

Cosechados los rabanitos se procedió a picar las hojas para tomar el peso fresco en gramos se determinó el peso seco con la ayuda de una balanza digital (Sartorius CP323 S), dentro de bolsas de papel.

## **3.4.2 Cualificación de la acción supresiva del vermicompost contra hongos patógenos empleando manzana (*Malus domestica*) a nivel laboratorio**

Para cualificar la acción supresiva contra hongos patógenos que poseen los vermicompost se realizó un ensayo con manzanas (*Malus domestica*). Para este propósito se realizó la asepsia de la fruta, seguidamente junto a un mechero se cortó por un extremo cada manzana y sobre el corte se procedió a colocar una capa de vermicompost (20 gr), inmediatamente la manzana se forró con plástico y se incubó por 10 días a 25 °C realizando 3 repeticiones por cada uno de los 12 tratamiento como se observa en la Figura 22. Desde el punto de vista fisiológico al incubar las manzanas a una temperatura de 25 °C se acelera la velocidad de respiración, además se aumenta la producción de etileno, acelerando la maduración de la manzana y su senescencia.



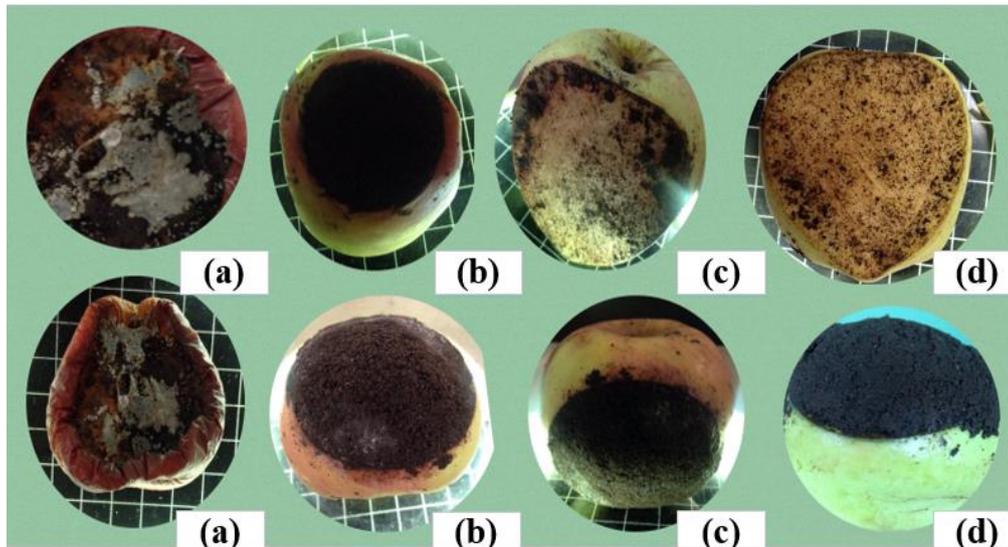
**Figura 22. Ensayo para determinación cualitativa de la acción supresiva del vermicompost obtenido en las unidades experimentales**

El etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) es un indicador natural de la maduración al acumularse en las cercanías de las frutas, desencadenando rápidamente un conjunto de reacciones asociadas a la maduración. Este compuesto aumenta la permeabilidad de las membranas y acelera el metabolismo activando las enzimas oxidativas e hidrolíticas lo cual favorece el crecimiento de hongos. Los principales patógenos de manzanas como *Penicillium expansum*, *Botrytis cinérea* y *Monilinia*, entre otros aparecen cuando la concentración del oxígeno es por debajo del 2 %. Sin embargo, factores como deshidratación, fisiopatías y podredumbres son causadas principalmente por estos hongos filamentosos (Janisiewicz, 1988).

El *Penicillium expansum* es la especie más predominante como patógeno de manzana, siendo el responsable de las enfermedades postcosecha principalmente en frutas y vegetales. Este hongo de fácil difusión y saprófito de herida, se desarrolla a partir de las mismas mediante hidrólisis pectolítica desarrollando una sintomatología de coloración azul conocida como podredumbre azul. Zhang *et al.* (2008) indican que otros patógenos de menor incidencia son *Penicillium solitum*, *Botrytis cinérea* y en algunos casos se han aislados cepas pertenecientes a los géneros *Rhizopus*, *Mucor*, *Monilia*, *Alternaria* y *Stemphiliium*. El nivel de antagonismo se calificó teniendo en cuenta el procedimiento realizado por Alvarez *et al.*, 2018.

- Ninguno: en aquellas muestras cuya superficie fue, invadida completamente por hongos inhabilitando la acción de microorganismo benéfico del vermicompost, Figura 23 (a).
- Bajo: los microorganismos benéficos inicialmente ofrecen resistencia al avance de hongos, pero luego este avanza sobre la superficie inoculada de la manzana, Figura 23 (b).
- Medio: No se presenta facilidad para invadir o podrir putrefacción rápida, tiene dificultad para cubrir las zonas pobladas de microorganismos, Figura 23 (c).
- Alto: Los microorganismos beneficiosos presentan total antagonismo y evitan completamente el crecimiento del patógenos Figura 23 (d).

A continuación, se muestran en la Figura 23, los niveles cualitativos que podría presentarse en la experimentación.



**Figura 23. Niveles supresivos del vermicompost ante hongos patógenos (a) Ninguno, (b) Bajo, (c) Medio, Alto (d).**

### **3.4.3 Evaluación de la acción antagonista del té de vermicompost contra *Fusarium sp.* en laboratorio**

Se evaluó cualitativamente la acción antagonista que poseen el té proveniente de cada uno de los vermicompost enriquecidos con microorganismos benéficos y *Bacillus sp.*, así como también de los vermicompost sin inoculación. empleando como medio Agar Sabouraud cuya preparación se describió en el punto 3.2.1 literal (c). Seguidamente se procedió a extraer a manera de sacabocado una pequeña porción del agar solidificado y a sembrar una pequeña porción del patógeno sobre un extremo de la placa, mientras que en el otro extremo se colocó a manera de siembra estriada pequeñas alícuotas del té de vermicompost (50 gramos de vermicompost con 100 mililitros de agua destilada). Se calificó en base a 4 niveles de antagonismo:

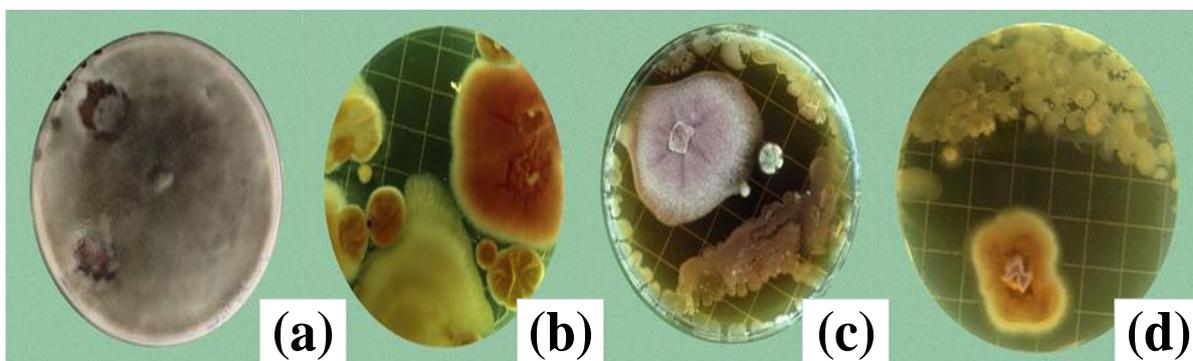
-Ninguno: El hongo invadió por completo la superficie de siembra con té de vermicompost, Figura 24 (a).

-Bajo: Al inicio se presenta resistencia ante el crecimiento, pero el *Fusarium sp.*, invade la superficie estriada con te de vermicompost, Figura 24 (b).

-Medio: El *Fusarium sp.*, invade medianamente la zona poblada por los microorganismos presentes en el té de vermicompost, Figura 24 (c).

-Alto: El consorcio de los microorganismos del té de vermicompost evitan el crecimiento total del *Fusarium sp*, Figura 24 (d).

Después de 12 días de incubación a 25 °C se puede ver el desarrollo del patógeno acorde los niveles establecidos. Con la finalidad de comparar los resultados se empleó un testigo con una placa sembrada con el patógeno, sin colocar té de vermicompost. No se evidenció en todos los tratamientos el mismo nivel de antagonismos.



**Figura 24.** (a) Ausencia de antagonismo muestra TLT ante *Fusarium* sp. (b) Bajo nivel de antagonismo de la muestra LMZ ante *Fusarium* sp. (c) nivel medio de antagonismo de la muestra LBZ ante *Fusarium* sp., (d) Alto nivel de antagonismo de la muestra MMZ ante *Fusarium* sp.

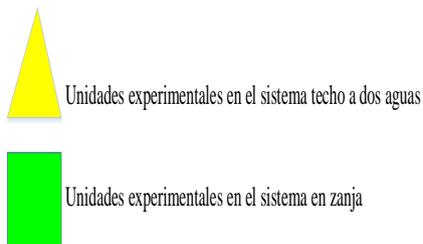
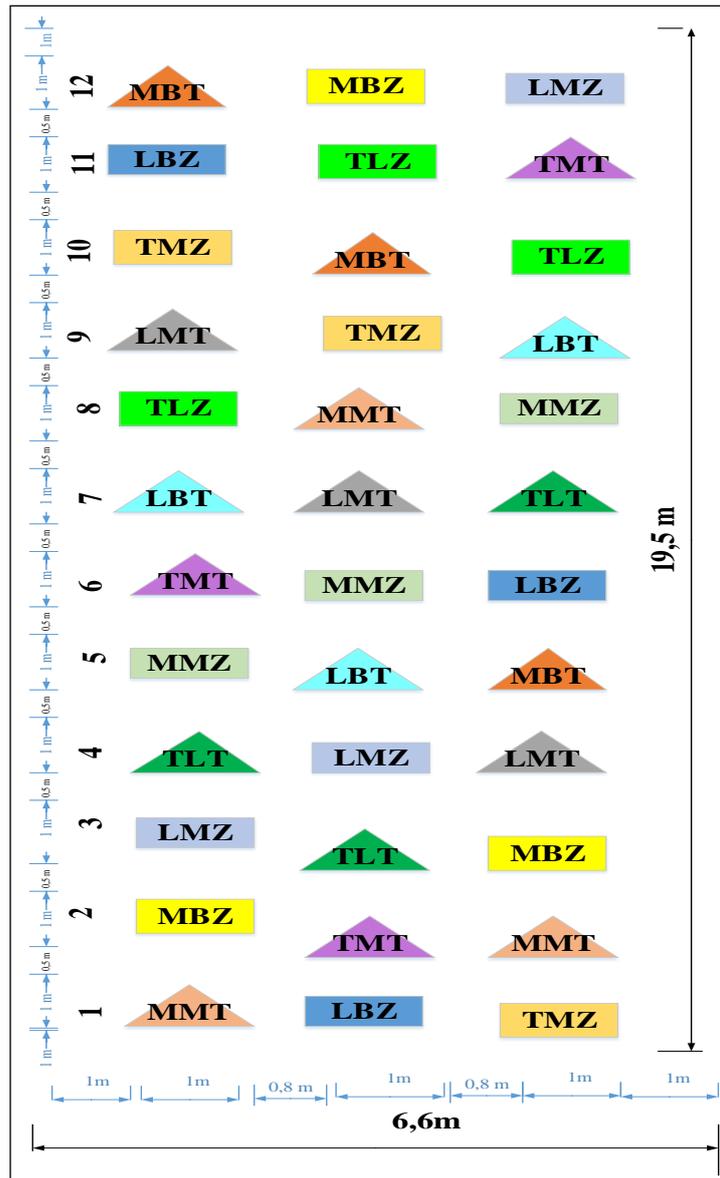
### 3.4.4 Diseño experimental

En la Fase experimental II, para la experimentación a nivel de escala piloto e invernadero se tomó en consideración la distribución de los siguientes tratamientos conjuntamente con sus variables. Las distribuciones de las unidades experimentales en estudio tanto a nivel de invernadero y escal piloto, se presentan en la Figura, 33. Así como también, se describen sus dimensiones a escal piloto para la experimentación con *Eisenia foetida* aplicando la técnica de inoculación a los tratamientos en estudio.

**Cuadro 17. Descripción de los tratamientos empleados a nivel de laboratorio, escala piloto e invernadero**

Tratamientos	Compost procedente de TA y TB	Inóculo	Sistema vermicompostaje
TMZ	compost inoculado MB (TB)	Testigo	Zanja
MMZ	compost inoculado MB (TB)	MB	Zanja
MBZ	compost inoculado MB (TB)	<i>Bacillus</i> sp.,	Zanja
TMT	compost inoculado MB (TB)	Testigo	Techo a dos aguas
MMT	compost inoculado MB (TB)	MB	Techo a dos aguas
MBT	compost inoculado MB (TB)	<i>Bacillus</i> sp.,	Techo a dos aguas
TLZ	compost Lavado (TA)	Testigo	Zanja
LMZ	compost Lavado (TA)	MB	Zanja
LBZ	compost Lavado (TA)	<i>Bacillus</i> sp.,	Zanja
TLT	compost Lavado (TA)	Testigo	Techo a dos aguas
LMT	compost Lavado (TA)	MB	Techo a dos aguas
LBT	compost Lavado (TA)	<i>Bacillus</i> sp.,	Techo a dos aguas

\*T=Testigo.



**Figura 25. Diseño y dimensiones de las unidades experimentales en los sistemas en zanja y techo a dos aguas para la producción de vermicompost a escala piloto.**

Con los vermicompost obtenidos a escala piloto se procedió a la siembra del modelo biológico *Raphanus sativus* L, en invernadero empleando la misma distribución de los tratamientos con la variante del empleo de macetas para la siembra del rabanito.

### 3.4.5 Análisis estadístico

#### a) Para análisis estadístico para estamentos poblacionales de *Eisenia foetida* (laboratorio y escala piloto) y Unidades Formadoras de Colonias en el vermicompost obtenido en escala piloto

Se empleó el modelo lineal generalizado en base a la distribución de Poisson binomial y binomial negativa, como componente aleatorio en el proceso de ajuste de un modelo lineal generalizado empleando el software Infostat. Se trabajó esta distribución debido a que se caracteriza por la igualdad entre su media y su variancia, supuesto difícil de verificar ya que en la práctica las observaciones de conteos frecuentemente exhiben una variabilidad que excede la supuesta para una variable del tipo *Poisson* (Rienzo *et al.*, 1995). Para modelos lineales generalizados Poisson binomial y binomial negativa, el cociente entre la desviación relativa y los grados de libertad residuales (número de tratamientos) debería estar cerca de 1 si el ajuste es razonable. Un valor grande de este cociente significa que la varianza es mayor que la esperada bajo la distribución correspondiente (sobredispersión). Al aplicar el modelo se obtiene tras la corrida estadística las resultantes relacionadas en base a:

n	AIC	BIC	LOGLIK	Desviación
36	334,90	358,65	-152,45	36,60

En donde:

n=número de unidades experimentales

AIC (*Akaike Information Criterion*) = equilibra la bondad de ajuste en el modelo versus la inclusión de variables en el modelo.  $AIC = -2 \ln L$

BIC (*Bayes Information Criterion*) = similar al AIC, el BIC también emplea un término de penalización asociado con el número de parámetros (p) y el tamaño de la muestra (n). Esta medida también se conoce como la información de Schwarz.

Desviación /n<3= La desviación dividida para el número de unidades experimentales debe ser menor a 3. La desviación es una medida de bondad de ajuste que puede usarse para evaluar modelos. Se define como el doble de la diferencia entre la probabilidad máxima alcanzable ( $y_i = \mu_i$ ) y la probabilidad de modelo ajustado (Rienzo *et al.*, 1995).

El modelo se utilizó para la cuantificación estadísticas tanto a nivel de laboratorio como a escala piloto para determinar:

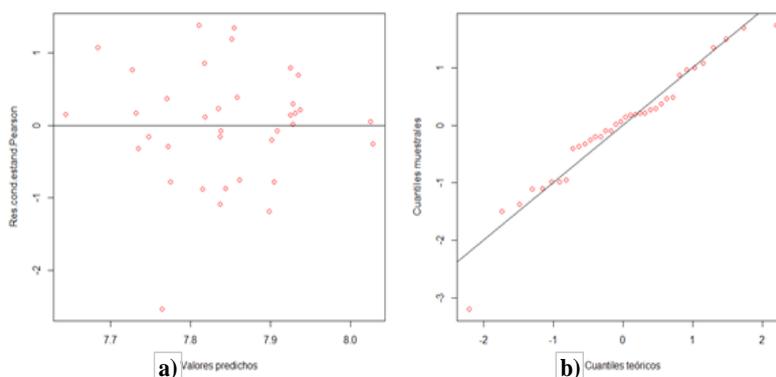
- Número de cocones (eclosionados y sin eclosionar)
- Número de lombrices juveniles
- Número de lombrices subadultas
- Número de lombrices adultas
- Densidad nominal y efectiva

En el vermicompost resultante se determinó

- Recuento de *Bacillus* sp., (UFC g<sup>-1</sup>)
- Recuento de bacterias (UFC g<sup>-1</sup>)
- Recuento de hongos (UFC g<sup>-1</sup>)
- Recuento de actinomicetos (UFC g<sup>-1</sup>)
- Recuento de *Lactobacillus* sp., (UFC g<sup>-1</sup>)
- Recuento de *Pseudomonas* sp., (UFC g<sup>-1</sup>)

**b) Para análisis estadístico de variables fisicoquímicas presentes en el vermicompost obtenido a escala piloto**

Se utilizó el Modelo Lineal General Mixto del programa estadístico InfoStat/E con especificación del modelo en R, en la Fase experimental II para el análisis estadístico de las diferencias observables entre las variables físico químicas de los tratamientos en estudio. Se tomó en cuenta una posible heterogeneidad de varianzas durante el período analizado. Para analizar la presencia de homogeneidad de varianzas, se empleó un gráfico de dispersión de residuos versus valores predichos, observandose una nube de puntos sin patrón alguno. De encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba LSD de Fisher ( $\alpha=0,05$ ).



**Figura 26. En base a los valores de los predichos y residuales: Diagnóstico de la variable pH al final del proceso de vermicompostaje para la producción de humus a) Homogeneidad de la variable b) Distribución de la variable**

Seguidamente, aplicado el programa se obtuvo por cada variable una tabla que contienen, las medias de la variable obtenidas por los tratamientos, el coeficiente de variación (CV) de la variable, en un plano de coordenadas X y Y, así como también el error estándar, los niveles de significancia con sus respectivas letras. Del análisis se tuvo presente que medias con letras diferentes son significativamente diferentes con  $p$ -valor  $< 0,05$  mientras que (medias con letras comunes no son significativamente diferentes con  $p$ -valor  $> 0,05$  (Rienzo *et al.*, 1995)

Los resultados se presentan a través de un gráfico de puntos con el objeto mostrar un resumen del conjunto de datos, en el eje Y se representa los valores medios de la variable en relación a los tratamientos que se representan en el eje X. Los valores medios tienen asociados segmentos de recta que representan medidas de variabilidad (por defecto, el Error Estándar de la media), si existe traslape entre los valores medios inferiores de un tratamiento y el valor medio superior del siguiente tratamiento no existen diferencias significativas.

El modelo se empleó para la determinación de las siguientes variables fisicoquímicas en estudio:

- Conductividad eléctrica ( $\text{dS m}^{-1}$ )
- Porcentaje de materia orgánica
- Potencial de hidrógeno
- Relación C/N
- Porcentaje de humedad
- Porcentaje de fósforo total (% PT)
- Porcentaje de potasio total (% KT)
- Porcentaje de calcio total (% CaT)
- Porcentaje de sodio total (% NaT)
- Porcentaje de magnesio total (% MgT)

Se empleó la técnica de análisis de varianza (ANOVA) para comparar sus medias entre tratamientos. Para las variables de desarrollo del rabanito (*Raphanus Sativus L*):

- Altura de planta a los 15 días
- Altura de planta a los 30 días
- Altura de planta a los 45 días
- Diámetro ecuatorial y polar
- Producción de biomasa de hipocotílo de rabanito tanto fresca como seca
- Producción de biomasa fresca en hojas.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Fase experimental I: evaluación del efecto de pretratamiento y compostaje sobre las características fisicoquímicas y biológicas del estiércol de vacuno

#### a. Caracterización fisicoquímica y biológica de la excreta de vacuno empleada en el proceso de pretratamiento

Los resultados de la caracterización de la excreta de vacuno empleada en la experimentación se presentan en el Cuadro 18, los análisis fisicoquímicos de la excreta sin tratamiento se detallan en el (ANEXO 1) y sus análisis microbiológicos de *Escherichia coli* y detección de *Salmonella* sp., se muestran en el (ANEXO 2).

**Cuadro 18. Caracterización de excreta de vacuno antes del tratamiento**

Parámetros	
pH (ácido-básico-alcalino)	7,75
Conductividad eléctrica (dS m <sup>-1</sup> )	11,9
Materia orgánica (%)	67,3
Relación C/N	22,0
Nitrógeno total (%)	1,64
K <sub>2</sub> O (%)	3,20
Na (%)	0,39
MgO (%)	1,06
CaO (%)	1,91
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	3,71
Bacterias totales <UFC/g>	61 x 10 <sup>6</sup>
Mohos <UFC/g>	25 x 10 <sup>5</sup>
Actinomicetos <UFC/g>	5,0 x 10 <sup>3</sup>
<sup>1</sup> <i>Escherichia coli</i> (<NMP/g)	32 x 10 <sup>4</sup>
<sup>1</sup> Detección de <i>Salmonella</i> sp., en 25 g	Ausencia

La excreta de vacuno presentó un pH de 7,75 moderadamente alcalino; valor similar al reportado por Barbazán *et al.* (2011) y muy cercano a 7,70 identificado por Lazcano *et al.* (2008) pero distante a 9,0 determinado por Silva De Mendonça Costa *et al.* (2015). El valor obtenido fue ideal para iniciar el proceso de pretratamiento y compostaje a escala piloto.

El pH de las excretas se mantuvo entre 6 y 8 dependiendo del estado seco o fresco de la excreta y de otros factores (Román *et al.*, 2013). Este parámetro a la vez define la supervivencia de los microorganismos. Un rango entre 5,5 a 8,0 en el estiércol de animales es considerado óptimo (Uribe *et al.*, 2001). No obstante, estudios han demostrado que rangos extremos de 5 y 11 retardan la actividad microbiana durante uno a dos días. En base al grado de descomposición de la excreta este tiende a variar e incrementarse debido a la pérdida de ácidos orgánicos mediante la volatilización a altas temperaturas, descomposición microbiana y liberación de aminoácidos a través de la mineralización del nitrógeno orgánico (Uribe *et al.*, 2001; Román *et al.*, 2013).

La salinidad de la excreta sin tratamiento fue de 11,92 dS m<sup>-1</sup> similar al registrado por Silva De Mendonça Costa *et al.* (2015) de 10,23 dS m<sup>-1</sup>, determinado igualmente en relación (1:10 m/v). Debido a su alta conductividad se propicia su lavado para reducirla. Una CE alta en la excreta refleja niveles elevados de una posible fitotoxicidad, sí el estiercol vacuno es aplicado directamente al suelo sin previo tratamiento.

Hao y Chang (2002) al estudiar el efecto de 25 aplicaciones anuales de estiércol de vacuno sobre cationes intercambiables insolubles y solubles del suelo observaron que su aplicación directa en el suelo determinó un aumento significativo, propiciando mayor adsorción de sodio y potasio en la solución suelo bajo condiciones irrigadas y no irrigadas, justificándose que es primordial dar un tratamiento previo a las excretas de vacuno antes de su aplicación como abono orgánico.

La excreta sin tratamiento presentó una relación C/N de 22 cercana a 19,62 ± 0,1 cuantificada por Zhong *et al.* (2018) y mayor a la determinada por Barbazán *et al.* (2011) de 16. Su valor esta relacionado con la alta cantidad de fibra remanente que ingiere el ganado en su dieta y en cierta forma, permanece en buenas cantidades en su excreta empleada como materia prima. No obstante, Bernal *et al.* (2009) sugieren como valores óptimos para compostaje empezar con un relación C/N entre 25 a 35. Con respecto a su contenido de materia orgánica este fue similar al de otro tipo de excreta exhibiendo 67,33 % de este parámetro.

En general, para la práctica y uso, se podría considerar que el estiércol en su estado seco presenta aproximadamente en su composición: N 0,58 %, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 0,25 %, K<sub>2</sub>O 0,5 %, CaO 0,01 % y alrededor de Mg 0,04 % Tapia y Fries (2007) por el contrario, la excreta al ser analizada mostró mayores contenidos: N 1,64 %, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 3,71 %, K<sub>2</sub>O 3,20

%, CaO 1,91 % y 1,06 % de Mg, posiblemente debido al manejo de la excreta dentro del establo.

En referencia a su carga microbiana se cuantificó  $61,2 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$  de bacterias totales,  $25 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$  de hongos,  $5 \times 10^4$  UFC  $g^{-1}$  de actinomicetos y  $32 \times 10^4$  UFC  $mL^{-1}$  de *Escherichia coli.*, en relación a *Salmonella* sp., no se registró su presencia. Peralta *et al.* (2016) determinó mayor cantidad de bacterias  $81 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$ , *Escherichia coli*  $11 \times 10^7$  UFC y valores similares para hongos y actinomicetos.

Se sabe que la variación en la composición de un estiércol depende de la raza del animal, del tipo de ganado, de su alimentación, contenido de materia seca o fresca, de sus grados de descomposición; debido a que un estiércol al estar expuesto al sol y a la intemperie es susceptible de perder en general su valor. A la vez se debe tener en consideración, que el estiércol no es sólo materia fecal, sino que en este inciden subproductos de la producción agropecuaria que incluyen material de cama (arena, aserrín, paja), agua de lavado, alimento salpicado, limpiadores (García *et al.*, 2009).

#### **b. Caracterización microbiológica del consorcio de microorganismos benéficos**

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos de laboratorio realizadas en el consorcio de microorganismos benéficos, se detallan en el Cuadro 19 y ANEXO, 3.

**Cuadro 19. Análisis microbiológico del consorcio**

<b>Ensayo microbiológico</b>	<b>Cantidad</b>
Aerobios mesófilos viables (UFC $mL^{-1}$ )	$22 \times 10^5$
Bacterias ácido lácticas (UFC $mL^{-1}$ )	$24 \times 10^4$
Mohos (UFC $mL^{-1}$ )	$1,7 \times 10^5$
Recuento de levaduras (UFC $mL^{-1}$ )	$5,8 \times 10^6$
Recuento de actinomicetos (UFC $mL^{-1}$ )	$6,8 \times 10^3$

Del análisis, el consorcio de microorganismos benéficos contiene los grupos microbianos que se reconocen que forman parte de los EM, a pesar de que el número de microorganismos de cada grupo es variable. Así por ejemplo (Alvarez, 2018) en la obtención de benéficos a partir de hojas de café (*Coffea arabica* L.) cuantificó  $2,31 \times 10^{13}$  UFC  $mL^{-1}$  de *Lactobacillus* sp;  $1,46 \times 10^7$  UFC  $mL^{-1}$  de *Bacillus* sp. Además, registró un valor de  $5,43 \times 10^6$  UFC  $mL^{-1}$  de hongos,  $8,67 \times 10^3$  UFC  $mL^{-1}$  de levaduras en microorganismos benéficos generados a partir de hojas de altamisa (*Artemisia vulgaris*), los valores reportados son similares a los obtenidos en esta investigación, contando con la cantidad adecuada de microorganismos para desarrollar los ensayos de pretratamiento y compostaje.

El empleo de microorganismos benéficos ha tenido una amplia difusión, debido a su efecto positivo en diferentes procesos, las interrelaciones entre microorganismos inciden en la interacción suelo, planta, microorganismo, ambiente y repercuten de forma directa, en el crecimiento, rendimiento y en el desarrollo de cultivos, así como también, influyen en la degradación de la materia orgánica (Pedraza *et al.*, 2010).

### c. Caracterización físico química del agua empleada en la experimentación

Los resultados obtenidos del análisis físicoquímico del agua de riego empleada en el proceso de pretratamiento y compostaje, se detallan en el Cuadro 20 y ANEXO 4.

**Cuadro 20. Análisis físicoquímico del agua de riego**

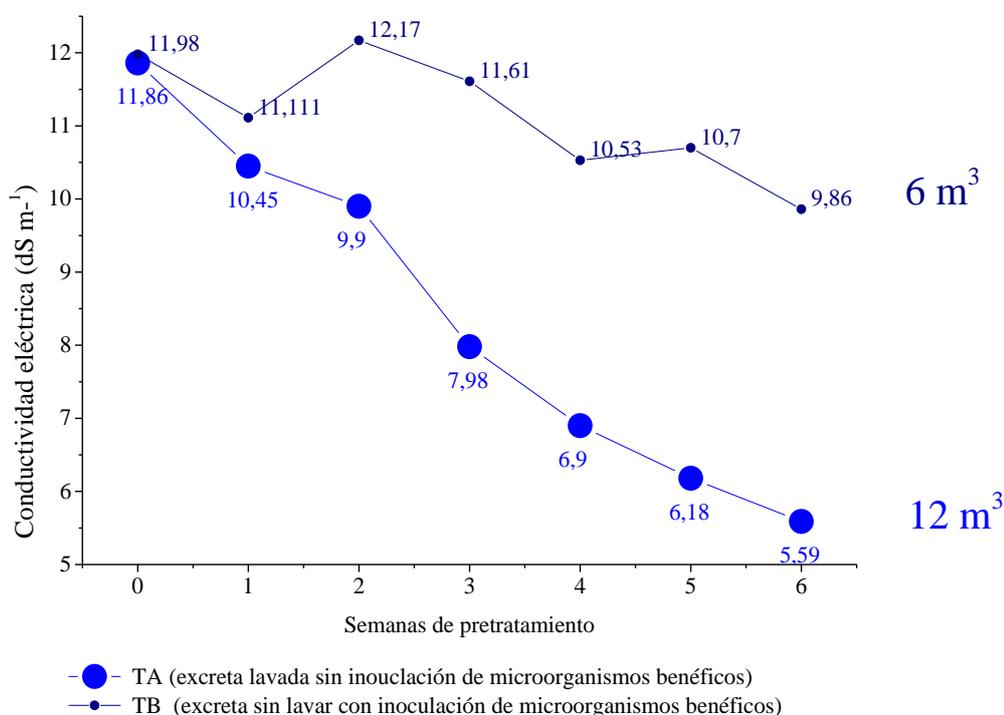
<b>Parámetros</b>	<b>Valoraciones</b>
CE dSm <sup>-1</sup>	0,52
pH	7,75
Calcio meq/L	3,60
Magnesio meq/L	0,63
Sodio meq/L	0,99
Potasio meq/L	0,06
Suma de cationes	5,28
Nitrato meq/L	0,00
Carbonato meq/L	0,00
Bicarbonato meq/L	1,71
Sulfato meq/L	1,52
Cloruro meq/L	2,00
Suma de aniones	5,23
Sodio %	18,75
RAS	0,68
Boro ppm	0,20
Clasificación	C <sub>2</sub> -S <sub>1</sub>

En el análisis estándar del agua presentó un pH 7,75 calificándola como moderadamente alcalina, con una CE de 0,52 dSm<sup>-1</sup> que indica su nivel medio de peligro de salinidad. En relación a la interpretación de calidad del agua de riego, acorde a los valores establecidos como parámetros en el laboratorio fue clasificada como (C<sub>2</sub> - S<sub>1</sub>). El rango del nivel medio C<sub>2</sub> va desde (0,25 - 0,75 dSm<sup>-1</sup>). Se pudo determinar que el agua en base a su concentración de sales es adecuada para ser empleada tanto en el pretratamiento y compostaje, así como también, para el riego del rabanito en invernadero.

#### 4.1.1 Pretratamiento: evaluación del efecto de lavado e incorporación de microorganismos benéficos sobre las características fisicoquímicas del estiércol vacuno

##### a. Evaluación de la conductividad eléctrica aplicando: lavado de sales y microorganismos benéficos

La variación de la CE del pretratamiento TA (excreta lavada con agua sin inoculación de microorganismos benéficos) y de TB (excreta sin lavar con inoculación de microorganismos benéficos) durante un período de seis semanas se muestra en la Figura, 27.



**Figura 27. Variación de la conductividad eléctrica durante el pretratamiento**

En TA (lavado) muestra un descenso significativo de la CE, se logró la reducción de la concentración de sales a partir de 11,86 a 5,59 dS m<sup>-1</sup>, durante el pretratamiento de seis semanas, obteniendo una reducción del 52,85 % tras aplicar 12 m<sup>3</sup> de agua semanales con un volumen final total de 72 m<sup>3</sup>, mientras que en el tratamiento TB (inoculado con microorganismo benéficos) esta disminuyó de 11,86 a 9,81 dSm<sup>-1</sup> produciéndose una reducción del 18,11 % empleando únicamente 6 m<sup>3</sup> semanales a partir del mismo valor inicial finalizando el pretratamiento con un volumen total de 36 m<sup>3</sup>. Al término del pretratamiento mayor reducción de la CE se obtuvo en el TA.

En base a los resultados, se asume que el consorcio de microorganismos benéficos tuvo menor influencia, sin embargo, en relación al tiempo, menor volumen de agua empleado, e inoculación microbiana llama la atención su reducción, la cual pudo ser influenciada por la proliferación de la población microbiana inoculada (Román *et al.*, 2013).

Su presencia en el sustrato propició el incremento del porcentaje de la liberación de sales solubles como el amonio y el fosfato, que resultan de la descomposición generada por la degradación ejercida por la actividad microbiana de los microorganismos inoculados. Entre los géneros bacterianos que poseen la propiedad de solubilizar elementos se destacan los microorganismos como *Bacillus* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Burkholderia* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhizobium* sp., *Vibrio proteolyticus*, *Enterobacter aerogenes* y *Streptomyces* sp., entre otros microorganismos (Bobadilla y Rincon, 2008).

Otro factor que posiblemente influyó en la reducción en la CE fue el tipo de agua de riego empleada cuya conductividad y composición no aportó mayor contenido de sales durante el pretratamiento, puesto que su CE se mantuvo entre 0,48 y 0,52 dS m<sup>-1</sup>. Esto se puede corroborar con el Cuadro, 20 y ANEXO, 4. La técnica de lavado con agua es generalmente empleada para la adecuación del sustrato especialmente cuando se trata de estiércoles con altas conductividades (Hernández *et al.*, 2011), razón por la cual la cuantificación del volumen de agua empleado valió la pena, se debe tener presente que un lavado excesivo podría perjudicar las características de las excretas, si se abusa de su uso, lixiviando sus nutrientes y empobreciendo el sustrato.

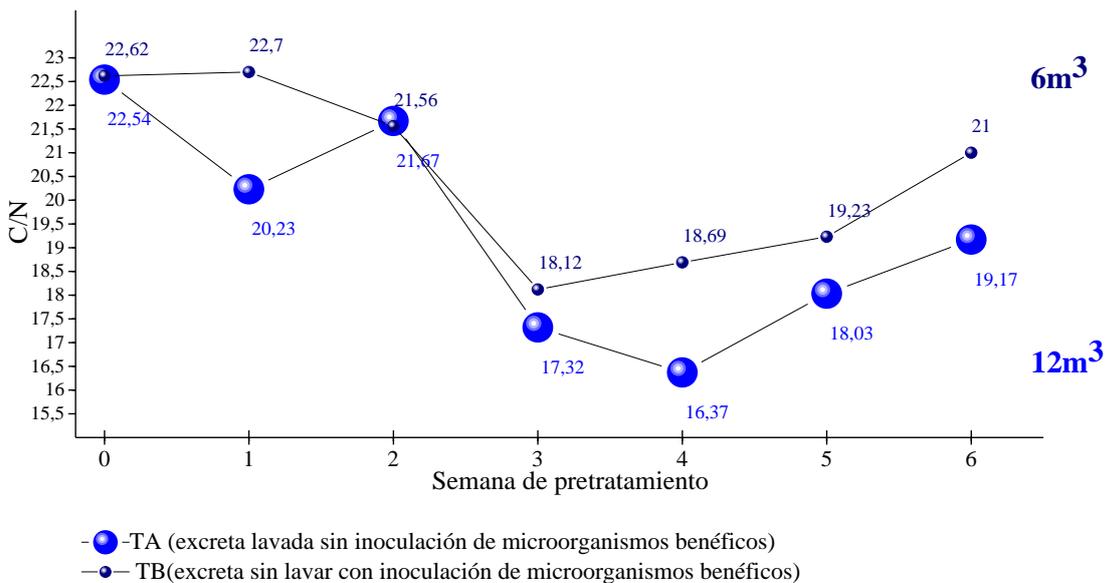
El volumen aplicado semanal de 12 m<sup>3</sup> en TA (lavado) fue relativamente menor al compararlo con el estudio de Hernández *et al.*, (2011) quienes al evaluar métodos de lavado de estiércol de vacuno bajo cinco niveles de agua a nivel de laboratorio registraron que el mejor método de riego (lavado) fue el de riego controlado con tres o cuatro volúmenes a través del cual redujeron la conductividad de 3,91 ± 0,30 a 0,25 ± 0,02 dS m<sup>-1</sup>.

La diferencia de reducción entre ambos tratamientos fue de 34,74 %, lo que exhibe un considerable porcentaje de disminución empleando únicamente la mitad de volumen de agua en el mismo tiempo de pretratamiento (seis semanas) en un sustrato de tres toneladas en un sistema de compostaje abierto. A partir de estos hallazgos, se ve la pertinencia del empleo del consorcio microbiano para reducir el gasto innecesario de

grandes volúmenes de agua y más aún cuanto el lixiviado como lo argumentan Román *et al.* (2013) contribuye con la contaminación del suelo, debido a que tiende a remover nitrato y otros componentes solubles del estiércol y transportarlos disueltos, generando su infiltración en el suelo y a la vez contaminando las aguas subterráneas e inclusive en suelos con capas freáticas altas y mayores velocidades de percolación siendo probable que el agua contaminada alcance a las aguas subterráneas.

**b. Evaluación de la relación C/N en el pretratamiento**

La evolución de la degradación de la materia durante el período de pretratamiento tanto en el tratamiento TA (excreta lavada sin inoculación de microorganismos benéficos) como en el tratamiento TB (excreta sin lavar con inoculación de microorganismos benéficos) se muestra en la Figura 28. Se observa que no se produce mayor cambio en la relación C/N con relación a su valoración inicial de 22,62 y 22,54.



**Figura 28. Variación semanal de relación C/N durante el pretratamiento**

En TA (lavado), al aplicar mayor cantidad de agua (12 m³) semanalmente se cuantificó una reducción del 19,17 %, mientras que en TB (inoculado) su reducción se limitó en 7,16 %. Un factor que influyó esta leve reducción de la relación C/N fue el corto período de duración del pretratamiento, puesto que los componentes de la excreta especialmente los lignocelulósicos requieren de mayor tiempo para su degradación.

La relación C/N indica el grado de descomposición de los residuos, ya que el carbono se pierde como CO<sub>2</sub> durante la bio-oxidación, mientras que el nitrógeno se pierde a un ritmo menor, (Lazcano *et al.*, 2008). Por el contrario, en la pila lavada la menor relación C/N obtenida en el pretratamiento puede explicarse en base a la aparente mayor producción de compuestos nitrógenados generados al lavar la excreta, a pesar de que este elemento pudo haberse perdido como amoníaco (Haro-Martí *et al.*, 2014).

Entre las desventajas de producirse el lavado están: la lixiviación de nutrientes, el lavado de nitratos, la reducción del nitrato a NO, N<sub>2</sub>O y N<sub>2</sub> por determinados microorganismos en condiciones de escasez de oxígeno propiciadas por el lavado, entre otras (Salazar - Sosa *et al.*, 2010).

Para obtener una óptima relación C/N se debe tener en consideración como punto de partida, las características de la materia prima con la cual se pretende trabajar. No obstante, Silva De Mendonza, *et al.* (2015) sugieren que los valores entre 25 y 35 deben considerarse como ideales para iniciar el compostaje de estiércol animal, así como también, se debe de adicionar material estructural (aserrín, pajilla de arroz, podas de árboles, etc). Por el contrario, Zhong *et al.* (2018) al experimentar la degradación de estiércol de vacuno sin material extra a partir de la relación C/N de  $19,62 \pm 0,1$  evidenciaron que no siempre es necesario emplear este tipo de material debido a que generalmente es de baja densidad, lo que aumenta significativamente el volumen de desechos y disminuye la capacidad operativa en comparación con el mismo volumen de estiércol sin material de carga.

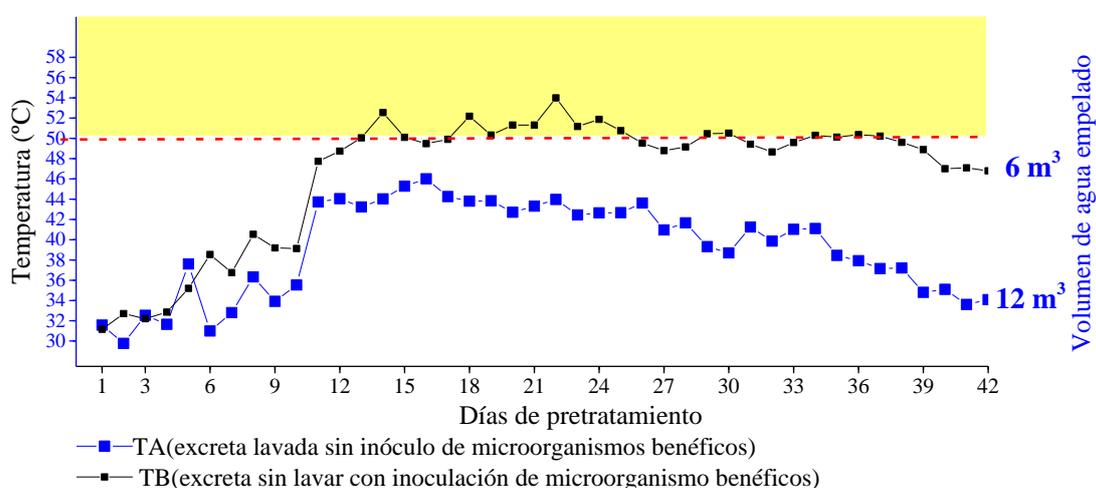
Razón por la cual en este experimento no se adicionó ningún tipo de material extra desde el pretratamiento de la excreta para alcanzar la relación C/N propuesta como lo sugieren los autores, debido a que la excreta de vacuno por su estado (semiseco) y su composición rica en fibra y nitrógeno presentó una relación C/N alta de 22. La cual por influencia de los pretratamientos y por el propio proceso de la degradación tendió a decaer levemente, se conoce que el carbono orgánico se descompone en distintos tiempos dependiendo de la estructura del material inmerso en la degradación, siendo algunos materiales más lábiles que otros.

### **c. Evaluación de la temperatura durante el pretratamiento**

La variación temporal de la temperatura en TA (excreta lavada sin inoculación de microorganismos benéficos) presentó mayor tendencia de disminución como resultante

de los volúmenes de agua aplicados para su lavado de sales, propiciando mayores porcentajes de humedad y por ende reducción en sus valores, lo cual se puede apreciar en la Figura 29.

En TA (lavado) se registraron temperaturas inferiores a 43 °C, durante los 13 primeros días. Sin embargo, este parámetro se incrementó en menor porcentaje a comparación de la temperatura de TB (inoculado), el cual registró mayores temperaturas desde el inicio del pretratamiento, incrementando su temperatura a partir de 31 a 45 °C hasta el día 10 manteniéndose por encima de este valor hasta el día 42 en el que finalizó el pretratamiento sin tendencia a disminuir.



**Figura 29. Variación de la temperatura durante el pretratamiento**

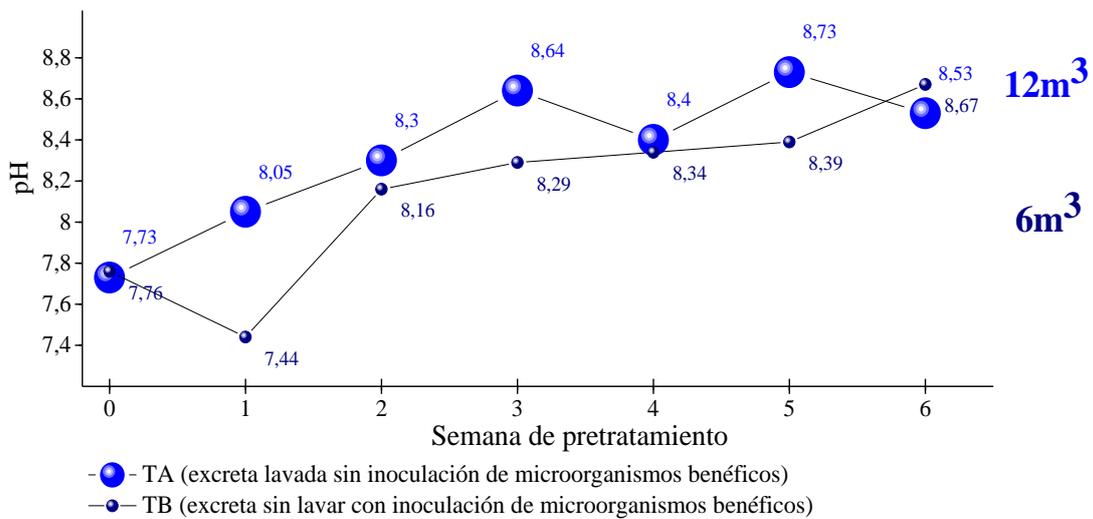
El valor constante de temperatura en TB (inoculado), puede explicarse por la acumulación de energía metabólica de los microorganismos al empezar el proceso de degradación de los materiales orgánicos inmersos en la materia prima, mientras que en el tratamiento TA (prelavado) la actividad microbiana tendió a disminuir por influencia de humedad propiciada por el lavado (Minh Tran *et al.*, 2015). Para Macgregor *et al.* (1981), la energía es liberada por el calor, siendo la variación de la temperatura un efecto de esta y a la vez una determinante de la actividad microbiana en el sustrato.

#### **d. Evaluación del potencial de iones hidrogeno (pH) en el pretratamiento**

Los resultados de la variación del potencial de hidrógeno TA (excreta lavada sin inoculación microorganismos beneficios) y en TB (excreta sin lavar con inoculación de microorganismos) se presentan en la Figura, 30. Se observa que durante el proceso de pretratamiento mayores diferencias de la variable pH se produjeron en TA (prelavado),

esta pila registró mayores incrementos de pH a partir de 7,73 hasta 8,53, se observó una influencia directa del agua sobre esta variable.

Se muestra un aumento significativo del pH a lo largo del proceso de pretratamiento en ambas pilas, alcanzando en TA (prelavado) un valor máximo (8,64) durante la tercera y (8,73) en la quinta semana de pretratamiento, mientras que en TB (inoculado) esta incrementó en las dos últimas semanas (8,39 y 8,53). Para la sexta semana ambos tratamientos alcanzan promedios de 8,53 y 8,76.



**Figura 30. Variación semanal del pH en TA y TB en el pretratamiento**

En el presente trabajo, se evidenció la influencia del lavado en el pH de la excreta especialmente en TA, esta variación se vincula a la influencia que ejerce la adición de mayores volúmenes de agua, afectando con mayor intensidad a elementos de mayor solubilidad como son los alcalinos, que a su vez son los que generan bases más fuertes incidiendo en su incremento cuando se produce el lavado de sales, mientras que en el tratamiento B, esta variable inició con valores igual a 7,76 hasta 8,53 finalizando con una valoración alcalina similar al de TA, sin embargo, esta valoración para inicio del compostaje es viable.

Otro factor que influyó en el incremento de esta variable posiblemente en los tratamientos pudo ser propiciado debido al mayor contenido de nitrógeno en la biomasa inicial de la excreta, sobre la cual posiblemente actuaron los microorganismos y gracias a su metabolismo transformaron el nitrógeno en amoníaco y posteriormente este

elemento se ionizó en amonio e hidroxilo (Arango *et al.* 2016), e incrementando el pH en el sustrato a lo largo de su degradación durante el pretratamiento.

La carga microbiana es diferente en las pilas, por lo tanto, sus efectos también son diferentes cuando se presentan ciertas condicionantes como el porcentaje de humedad el cual también influyó en la variación del pH. Al final del pretratamiento ambos tratamientos alcanzan valores que se alejan aún del óptimo de pH, conviene que la excreta vaya alcanzando un valor lo más neutro posible, debido a que los microorganismos responsables de la descomposición de los restos orgánicos no toleran valores muy alejados de 7 tornando mas lenta su degradación (Mazzarino y Hernández, 2005) lo cual se logró en la etapa subsecuente de compostaje.

Finalizada la etapa de pretratamiento y controladas sus variables, seguidamente se inició con el proceso de compostaje. A continuación, se detallan los cambios que experimentaron las variables durante las ocho semanas de compostaje.

#### **4.1.2 Compostaje: evaluación del efecto de compostaje sobre las características fisicoquímicas y biológicas del estiércol vacuno pretratado.**

##### **a. Evaluación de la temperatura durante el compostaje**

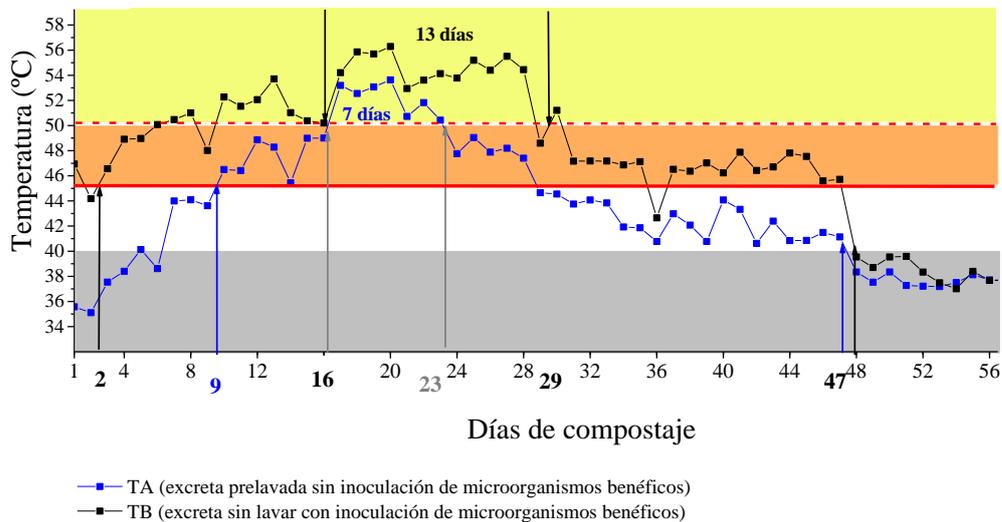
La variación temporal de las temperaturas promedio de cada tratamiento, durante el período de compostaje (56 días), se observa en la Figura 31. El tratamiento TA (prelavado) presentó una fase mesófila más larga de nueve días, a partir del día nueve este tratamiento inició su fase termófila con temperaturas sobre los 45 °C como consecuencia de la reducción del volumen de agua de 12 a 6 m<sup>3</sup> y disminución del porcentaje de humedad en la pila. En el tratamiento TB (inoculado) la temperatura siguió una tendencia similar al pretratamiento continuando su ascenso sobre los 45 °C al segundo día de compostaje, presentando una menor duración de la fase mesófila y mayor duración de la fase termófila.

Al evaluar la temperatura en la porción de la curva correspondiente a su fase mesófila se observaron marcadas diferencias entre los tratamientos producidas por las modificaciones realizadas al material inicial (prelavado e inoculado). Se deduce que el lavado de la excreta retrasó el compostaje en TA (prelavado) en un período de aproximadamente nueve días, retardando también la actividad microbiana, esto se

corroborar al observar que el tratamiento alcanzó menores temperaturas sin reflejar mayor incremento de esta variable en ese lapso de tiempo.

Los incrementos de temperatura en la fase termófila en el tratamiento TB (inoculado) se dió a partir del día nueve, registrando valores mas altos sobre los 50 °C y 54,5 °C durante 13 días entre los días 16 al 29, mientras que en TA (prelavado) este parámetro recién alcanzó temperaturas entre 50 y 54 °C a partir del día 16 durante un período mas corto de siete días (Figura 31).

La presencia de picos hacia abajo en la temperatura propiciados por el volteo y toma de muestras dentro de las pilas, mejoró la actividad de los microorganismos, debido a que el compostaje es un proceso aeróbico, por el cual el calentamiento producto de la actividad microbiana es más eficiente mientras mejor sea la aireación. El volteo es un factor mecánico que contribuye a incrementar la temperatura en la fase termófila debido a mejora la regulación de espacios de aire libre dentro del material a compostar aumentando la difusión de oxígeno en el sustrato, mejorando a la vez su actividad biológica y permitiendo mayor degradación e incremento de temperatura en las pilas de compostaje para lograr su sanitización (Zhong *et al.*, 2018).



**Figura 31. Variación de la temperatura durante el proceso de compostaje**

Si bien el tratamiento TA (prelavado) no alcanzó temperaturas por encima de los 55 °C, como lo recomienda la EPA en relación al apartado 503, durante 15 días para la reducción de patógenos (USEPA, 1994) para sistemas de compostaje de pilas abiertas. Su análisis microbiológico reportó la ausencia de patógenos como *Escherichia coli* y

*Salmonella* sp., en ambos tratamientos cuya concentración inicial de *Escherichia coli*, fue de  $27 \times 10^4$  NMP g<sup>-1</sup> la cual fue eliminada. Con respecto a la presencia de *Salmonella* sp., tanto al inicio como al final no se registró ni tampoco por contaminación cruzada tanto en TA como en TB (ANEXO 7, 8).

En la etapa de enfriamiento (menor a 40 °C) las temperaturas empezaron a descender paulatinamente a partir del día 47 en TA (prelavado) y 48 en TB (inoculado) registrando valores casi similares e inferiores a 40 °C, pero no cercanos a la temperatura ambiente (Figura, 31). Así mismo, otro factor que contribuyó al descenso de la temperatura descrito por Zhong *et al.* (2018) pudo ser el posible agotamiento de los sólidos volátiles degradables y la pérdida de calor al término del proceso.

Durante el proceso de compostaje la actividad microbiana es un factor clave para la degradación de la materia orgánica. Diaz y Savage (2007) indicaron que el número de organismos mesófilos en el sustrato original es tres órdenes de magnitud mayor al del número de organismos termófilos y la actividad de los descomponedores primarios induce al aumento de temperatura.

Bernal *et al.* (2009) indicaron que en cada fase del compostaje se manifiesta una cierta predominancia de los microorganismos involucrados durante el proceso de degradación, los cuales van incrementando su actividad o inhibiéndola en base a la temperatura que se desarrolla a lo largo del proceso; por ejemplo, al inicio hay gran predominancia de bacterias, a medida que incrementa la temperatura aparecen los hongos los cuales se podrían mantener presentes a lo largo del proceso. Sin embargo, son más predominantes a temperaturas inferiores de 35 °C y pierden actividad a los 60 °C. Además, los actinomicetos son un tercer grupo importante que predominan durante la fase de maduración y estabilización; estos microorganismos junto con los hongos son capaces de degradar polímeros resistentes.

Al comparar la variación de la temperatura del tratamiento TB (inoculado), con los resultados de otras investigaciones que emplearon como inóculo bacterias del ácido láctico (*Pediococcus acidilactici* TM14) se observa un comportamiento similar, puesto que se ha demostrado que las bacterias exógenas tienden a incrementar la temperatura y acelerar la degradación de la materia orgánica (Minh Tran *et al.*, 2015).

Del mismo modo, el empleo de complejos microbianos psicrófilos termófilos compuesto por bacterias psicrófilas y hongos (*Brevundimonas diminuta* CB1, *Flavobacterium glaciei* CB23, *Aspergillus niger* CF5 y *Penicillium commune* CF8), contribuyen también en la aceleración de procesos de compostaje en su fase inicial promoviendo el incremento de temperatura incluso bajo condiciones de clima frío, lo cuál ha sido demostrado al mezclarlos con pajilla de arroz (Gou *et al.*, 2017).

En el proceso de compostaje en la pila inoculada con microorganismos benéficos se observó la reducción potencial de atracción de vectores, al igual que ha sido reportado por Uribe *et al.* (2001) quienes al emplear un consorcio de microorganismos eficientes (EM), no solo redujeron la contaminación del microambiente (control de malos olores, moscas), sino también, mejoraron la calidad de la gallinaza, acelerando la estabilización del proceso al compostarla durante seis semanas, acelerando su degradación.

Al término del compostaje es evidente la influencia que ejerce la inoculación de consorcios microbianos para acelerar el proceso de compostaje (56 días), empleando menores volúmenes de agua. En efecto, Patidar *et al.* (2013) en un proceso de compostaje de 40 días experimentó la obtención de compostos tras inocular en la fase termófila *Streptomyces viridosporus*, *Aspergillus niger* y *Moraxella osloensis* al emplear estiércol de vacuno mezclado con Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) y *Jatropha* (*Jatropha curcas* L).

Se debe tener en cuenta que la obtención de un solo inóculo con gran potencial descomponedor parece improbable, así como también el solo hecho de que un solo tipo de organismos en particular pueda gobernar todo el proceso de degradación y compostaje puesto a que en el proceso de descomposición hay una amplia gama de microorganismos que intervienen y cuya actividad se ve reflejada en el comportamiento de la variable temperatura (Tortarolo *et al.*, 2008).

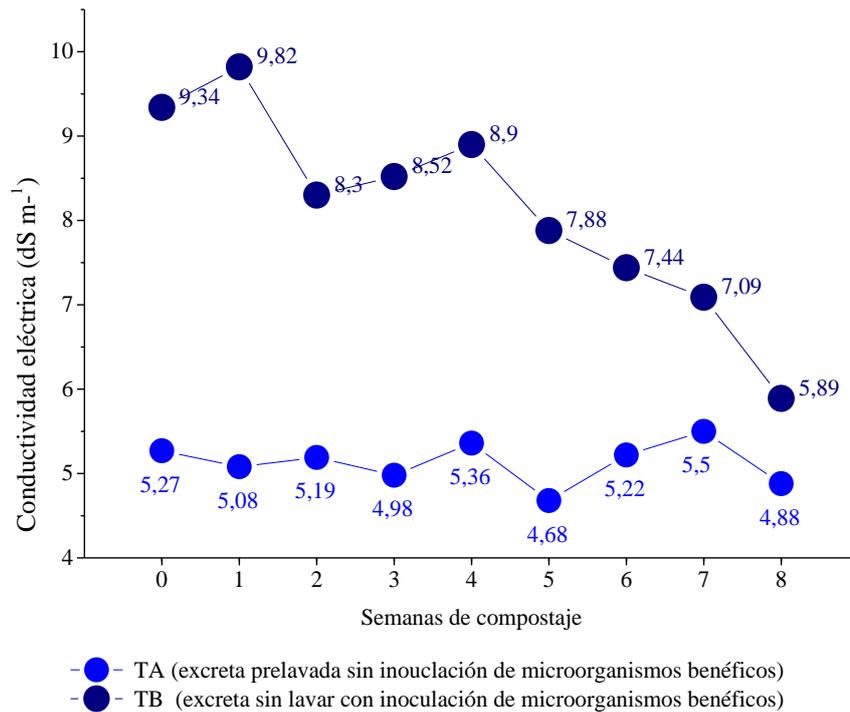
La variabilidad del parámetro temperatura permitió evaluar el proceso de compostaje en sus diferentes fases, así como también reflejó al final del proceso la sanitización de las pilas al alcanzar temperaturas sobre los 50 °C, sin embargo, marcadas diferencias se propiciaron entre ambos tratamientos, siendo el tratamiento TB (inoculado) el que mayores cambios reflejó y en el cual mayor actividad microbiana se presentó lo cual se corrobora ante los aumentos significativos de temperatura obtenidos.

## **b. Evaluación de la conductividad eléctrica durante el compostaje**

De manera general se puede observar que durante el proceso de compostaje para la variable CE continúa observándose notables diferencias entre los tratamientos. En el tratamiento TB (inoculado) se observó una reducción a partir de 9,34 a 5,89 dS m<sup>-1</sup>, mientras que en el tratamiento TA (prelavado) la CE disminuyó de 5,27 a 4,88 dS m<sup>-1</sup>. Los resultados de la evaluación de la CE a lo largo del proceso se presentan en la Figura 32.

Al final del proceso la CE exhibió en TA (prelavado) una disminución del 58,9 % mientras que en TB (inoculado) su reducción fue del 51,4 % demostrándose a la vez que un efecto casi similar se obtiene empleando menor volumen de agua e inoculando el consorcio de microorganismos benéficos después de ocho semanas. No obstante, una de las ventajas durante del proceso de pretratamiento y compostaje fue haber empleado una manga aspersora para la irrigación, puesto que su uso propició un caudal de riego más homogéneo en los tratamientos, debido a que sus aspersores emitían la misma cantidad de agua, de manera más uniforme para mantener la humedad en las pilas necesaria para la actividad microbiana.

Otro factor que posiblemente incidió en la reducción de CE fue el incremento de la proliferación de microorganismo inoculados tras la aplicación semanal del consorcio microbiano durante todo el proceso, debido a que los microorganismos incrementan la solubilización de las sales, aumentando a su vez el porcentaje de los elementos solubles que podrían reducirse en menor tiempo con menores volúmenes de agua, además ciertas especies pequeñas como las bacterias tienen un alto potencial biótico, una cepa bacteriana puede reproducirse cada 20 minutos.



**Figura 32. Variación de la conductividad eléctrica durante el proceso de compostaje**

La reducción de este parámetro no fue completamente homogénea durante el proceso de compostaje puesto que el tratamiento de TB (inoculado) entre la segunda y la transición de la cuarta semana denotó un ligero aumento de la CE de 8,3 a 8,9 dS m<sup>-1</sup> respectivamente, estos incrementos pudieron deberse al aumento de sales como: amoníaco y fosfatos, que se incrementan después de la degradación de la mayoría de los compuestos lábiles en la fase termófila del compostaje, este comportamiento fue igualmente reportado por Villar *et al.* (1993) mientras que, en TA (prelavado) se registraron mayores incrementos entre la cuarta y séptima semana de 5,36 y 5,5 dS m<sup>-1</sup> respectivamente, no obstante, durante la fermentación los microorganismos tienden a producir ácidos orgánicos, los cuales influyen en la solubilización de sales minerales, al igual que otro mecanismo que podría contribuir es la oxidación-reducción.

Actualmente una amplia gama de microorganismos rizosféricos han sido reportados como solubilizantes de potasio los cuales incluyen: *Bacillus mucilaginosus*, *B. polymyxa* (fosfato solubilizadores), *B. firmus* (liberadoras de potasio), *Arthrobacter* sp, entre otros (Das *et al.*, 2016). En las etapas posteriores del compostaje esta reducción de sales podría deberse a la volatilización del amoníaco y a la precipitación de sales minerales (Onwosi *et al.*, 2017).

En conclusión, la evaluación de la variación de la CE durante su pretratamiento y compostaje desarrolló notables cambios en su disminución, ante lo cual se asume que, menores volúmenes de agua asociados con la inoculación del consorcio de microorganismos benéficos y los volteos incrementan la carga microbiana, contribuyeron en la reducción de este parámetro. No obstante, mayor precipitación de sales pudo haber sido propiciada por los microorganismos solubilizadores presentes en el sustrato enriquecido.

### **c. Evaluación de la relación C/N durante el compostaje**

Los resultados de la evaluación de la C/N se presentan en la Figura 33. Se observa de manera general que durante el proceso de compostaje hay notables diferencias entre los dos tratamientos. Al final del proceso de compostaje, se registraron valores muy aproximados entre sí, 14,01 en TA (prelavado) y 15,32 en TB (inoculado). Sin embargo, en TA se aprecian incrementos de la relación C/N durante la segunda y la sexta semana, lo cual indica que la degradación de la materia no ha sido completamente homogénea, esto puede ser la resultante de la adición de mayores volúmenes de agua para propiciar su lavado, los cuales incrementaron la densidad aparente de la excreta impidiendo su mezcla homogénea durante los volteos.

En el tratamiento TB la relación C/N evidenció una reducción más homogénea, durante todo el proceso debido a la dinámica del carbono, el cual tiende a disminuir como consecuencia de la oxidación. Al compostar en general un residuo orgánico, la relación C/N es alta y va disminuyendo durante el proceso de compostaje como resultante de las pérdidas de carbono como  $\text{CO}_2$  para luego estabilizarse en el rango de 10 – 15 (Lazcano *et al.*, 2008).

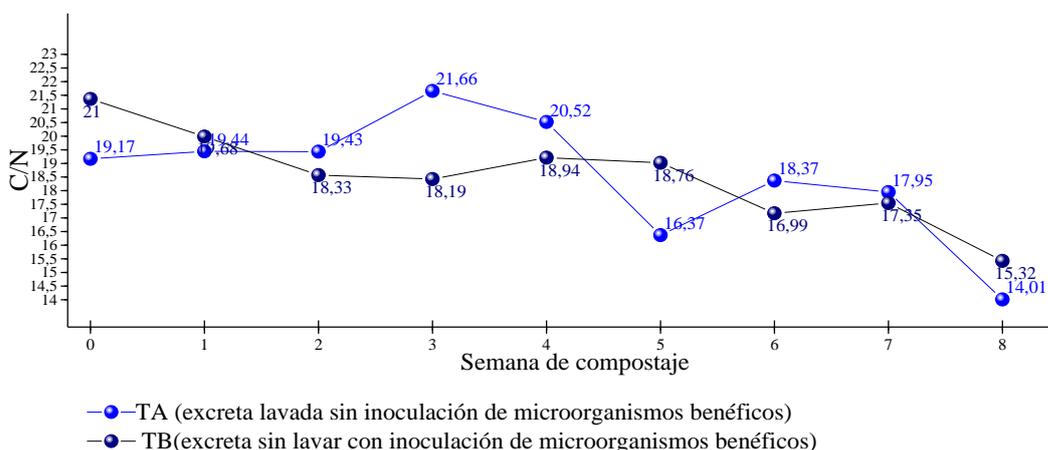
Para Gómez-Brandón *et al.* (2010) la relación C/N algunas de las veces no podría ser un buen indicador de la estabilidad del compost, debido a que esta puede nivelarse antes de que el compost llegue a la estabilización. Zamora-Nahum *et al.* (2005) indican que una relación óptima de C/N en el compostaje de estiércol vacuno alcanza valores menores a 15. A pesar de que podrían seguir latentes los procesos de estabilización.

En base a lo expuesto los compost de los tratamientos TA (lavado) y TB (inoculado) evaluados alcanzaron la estabilidad después de 56 días lo cual se refleja en los valores de relación C/N obtenida. Similarmente, Zhong *et al.* (2018) al compostar a nivel de

laboratorio estiércol de ganado lechero puro mezclado con aserrín obtuvieron similares resultados en los productos finales al cabo de 48 días.

Patidar *et al.* (2013), al compostar estiércol fresco de vacuno mezclado con *Jatropha curcas* L en la relación (2:1) registraron una disminución de la relación C/N a partir de  $37,89 \pm 1,10$  a  $18,46 \pm 1,20$  en 40 días inoculando *Streptomyces viridosporus*, *Aspergillus niger* y *Moraxella osloensis*.

Edwards *et al.* (2011), señalan que la relación C/N ideal de un compost maduro debería ser alrededor de 10 pero no siempre se alcanza este valor. Durante el proceso este parámetro disminuyó después de aplicados los pretratamientos y su compostaje hasta llegar a 14,01 en TA (lavado) y 15,32 en TB (inoculado). La variación de la relación C/N entre TA y TB durante el compostaje (Figura, 33).



**Figura 33. Variación semanal de relación C/N durante el proceso de compostaje**

En relación a la textura de las excretas, se puede remarcar que, si bien al inicio estas fueron de consistencia firme y ásperas con bajo contenido de humedad, al final del proceso la excreta del tratamiento TB (inoculado) presentó mejores características estructurales y homogéneas mientras que la excreta del tratamiento TA (prelavado) desarrolló características físicas heterogéneas y menos palpables al tacto ocasionado por el mayor volumen de agua empleado al inicio en el pretratamiento.

Este estudio se brinda una opción para el manejo de este material residual agroindustrial, que incrementa diariamente y el cual requiere de un manejo ambiental integrado sostenible. Propone como alternativa la reducción del uso excesivo de agua y confirma la posibilidad de alcanzar una disminución en el tiempo de compostaje de la excreta de vacuno 3 t en tan solo 56 días bajo condiciones reales a escala piloto, sin la

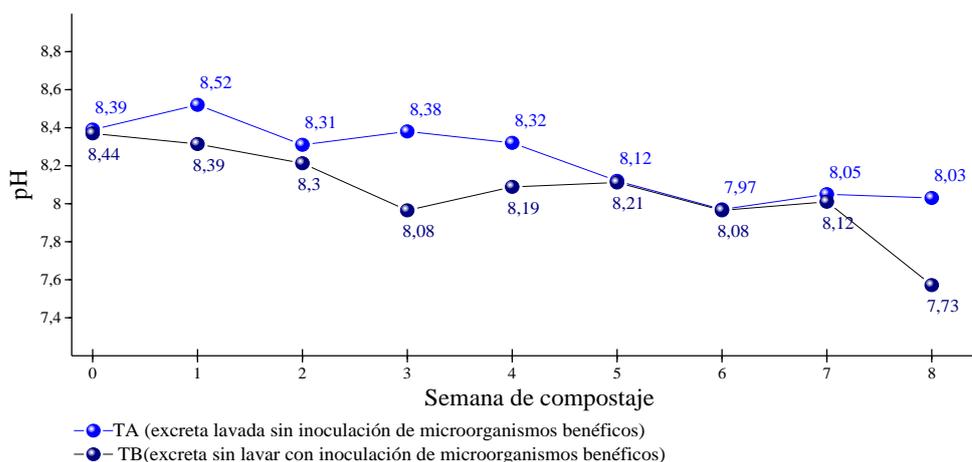
necesidad de adición de material extra o de soporte. Coincidiendo con Harada *et al.* (1998), quienes argumentan que al emplear aserrín como material de soporte este podría prolongar el proceso de compostaje, puesto que el material muchas de las veces no propicia una aireación eficiente.

#### **d. Evaluación del pH durante el compostaje**

Los resultados de la evolución del potencial de hidrógeno tanto en el tratamiento TA (prelavado) y como en TB (inoculado) se presenta en la Figura, 34. El pH se reduce gradualmente a lo largo del período de experimentación, disminuyó a partir de 8,39 a 8,03 en TA (prelavado) y 8,44 a 7,73 en TB (inoculado) después en los pretratamientos aplicados, mayor descenso se observó en el tratamiento TB (inoculado), reflejando mayor tendencia a un valor neutro 7,73 mientras que TA (prelavado) ligeramente presentó un valor alcalino 8,03.

En el tratamiento TA (prelavado) se observa mayor variación de esta variable, en la primera semana aumenta a 8,52 y disminuye en la tercera semana a 8,31. Sin embargo, tiende a estabilizarse en la fase de enfriamiento, en la cual los microorganismos como los hongos reinician su actividad y el pH del medio desciende ligeramente a la neutralidad, además su disminución esta ligada al formación de compuestos húmicos que tienen propiedades tampón (Zhong *et al.*, 2018).

En el tratamiento TB (inoculado) hay una tendencia a disminución del pH a partir de 8,44 a un valor más bajo entre 8,39 – 8,08 esta disminución del pH durante las primeras semanas pudo deberse a la acción de los microorganismos sobre la materia orgánica más lábil, produciéndose una liberación de ácidos orgánicos. Además, puede deberse al desprendimiento de CO<sub>2</sub>, el cual al disolverse en el agua contenida en los poros del material tiende a la formación del tampón carbonato bicarbonato (Elvira *et al.*, 1998). (Figura 34).



**Figura 34. Variación semanal del pH en TA y TB durante el proceso de compostaje**

En las siguientes semanas el pH se mantiene alcalino, debido a la acción de los microorganismos termófilos que actúan transformando el nitrógeno en amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) gas que alcaliniza el medio (Wang *et al.*, 2015). Así como también, puede deberse a la descomposición de las proteínas y aminoácidos por parte de carga microbiana propia del estiércol y del inóculo microbiano aplicado y consecuentemente a la producción de  $\text{NH}_4\text{-N}$  por amonificación. Incrementando su valor a 8,19 a 8,21.

Similar comportamiento de la variación de pH se identificó al compostar gallinaza con EM formulado a base de: *Aspergillus oryzae*, *Candida utilis*, *Streptomyces albus*, *Mucobacter hiemalis*, *Rhodopseudomonas sphaeroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus faecalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, describiendo un rápido aumento de esta variable excediendo el valor de 8,0 en el transcurso a la segunda semana de compostaje y descendiendo en la última a 7,71 (Zhu *et al.*, 2015).

Por el contrario, Turan (2008) sostiene que esta variable disminuye en las primeras etapas del compostaje y una ligera elevación al término del proceso, Sin embargo, estos valores concuerdan con los reportados por Saludes *et al.* (2008) al compostar excreta de vacuno con restos de tableros de papel quienes reportaron la disminución del pH a partir de 8,4 a 7,8 después de 14 días de compostaje a nivel de laboratorio. Igualmente, Zhong *et al.* (2018), registraron un valor de 7,73 al compostar a escala de laboratorio fracciones sólidas de estiércol vacuno durante 48 días en reactores de 28 L de capacidad.

La inmovilización, volatilización y la acumulación de ácidos orgánicos propios de formación en la etapa termófila (Inbar *et al.* 1993) reflejan la relación existente entre los cambios de pH y las transformaciones de nitrógeno durante la degradación de la materia orgánica.

Otro factor que probablemente incidió fue el volteo semanal que se propició a la excreta para su degradación en ambas pilas. Con respecto a ello, Guardia *et al.* (2008) indicaron que la aireación permanente es eficaz para reducir las emisiones de amoníaco. A medida que se realizó los volteos se suministró oxígeno al sustrato a compostar controlando los procesos importantes como la biodegradación, la amonificación y la nitrificación, puesto que la aireación ejerce una influencia importante en la dinámica del nitrógeno. Rynk (1992) argumentó que los valores de pH entre 7,5 y 8,5 deben ser considerados como indicadores indirecto de condiciones adecuadas de aireación, donde no se propicia la biodigestión anaeróbica y la liberación adicional de ácidos orgánicos.

Consecuentemente los compost obtenidos bajo estos dos pretratamientos presentan un pH que encaja dentro del rango citado por Rynk (1992) además Edwards *et al.* (2011) indicaron que las especies epigeas: *Eisenia foetida*, *Lumbricus rubellus*, *Eisenia andrei*, *Eisenia eiseni*, *Eudrilus eugeniae*, *Perionyx excavatus* y *Eiseniella tetraedra*, son tolerantes a niveles de pH de 5 – 9, cualificándose el sustrato obtenido como aceptable para la nutrición de la *Eisenia foetida* para el procesos de vermicompostaje.

#### **4.1.3 Comparación de la caracterización fisicoquímica y biológica de los compost resultantes**

A continuación, en el Cuadro 21, se realiza un análisis comparativo de los resultados de caracterización de los compost obtenidos de los tratamientos TA (prelavada) y TB (inoculado) compostados durante 8 semanas; así como también se presentan las valoraciones de su caracterización en la excreta pura detallados anteriormente en el Cuadro, 18.

**Cuadro 21. Comparación de parámetros antes y después de su tratamiento**

<b>Análisis físico y químico</b>			
<b>Parámetros</b>	<b>Excreta sin tratamiento</b>	<b>Compost prelavado</b>	<b>Compost inoculado</b>
CE (dSm <sup>-1</sup> )	11,92	4,88	5,88
pH	7,75	8,03	7,73
Relación C/N	22,00	14,01	15,32
Nitrógeno total (%)	1,64	1,90	1,80
K <sub>2</sub> O (%)	3,20	1,90	1,89
Na (%)	0,39	0,26	0,33
MgO (%)	1,06	0,97	1,05
CaO (%)	1,91	3,00	3,18
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	3,71	1,54	1,76
<b>Análisis microbiológico</b>			
Bacterias totales (UFC g <sup>-1</sup> )	61,2 x10 <sup>6</sup>	5,8x10 <sup>5</sup>	2,1x10 <sup>6</sup>
Mohos (UFCg <sup>-1</sup> )	25x10 <sup>5</sup>	3,5x10 <sup>4</sup>	3,20x10 <sup>4</sup>
Actinomicetos (UFC g <sup>-1</sup> )	5x10 <sup>3</sup>	1,4x10 <sup>5</sup>	1,30x10 <sup>5</sup>
<i>Escherichia coli</i> <NMP g <sup>-1</sup> )	27x10 <sup>4</sup>	<3	<3
Detección de <i>Salmonella</i> sp., en 25 g	Ausencia	Ausencia	Ausencia

El análisis físicoquímico de los compost se presentan en los ANEXOS 5 y 6. Los análisis microbiológicos de determinación de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp., se presentan en los ANEXOS 7 y 8, los elementos determinados en los productos finales en el ANEXO, 9.

El pretratamiento de lavado seguido del proceso de compostaje en TA, propició una reducción del 49,32 % de su CE, sin embargo, al emplear menor volumen de agua e inoculando microorganismos benéficos se alcanzó una reducción del 40,93 % en TB, obteniéndose una reducida diferencia de 8,39 % entre ambos tratamientos. Esto indica la viabilidad del empleo de menor volumen de agua conjuntamente con el uso de microorganismos benéficos para promover la aceleración del proceso de degradación y solubilización de sales, por lo que se considera que este consorcio estimula la proliferación microbiana a pesar de que la actividad biológica podría ser inhibida por una alta CE del sustrato inicial (Turan, 2008).

Los valores obtenidos en ambos tratamientos indican una mejora de la calidad química del compost, puesto que una alta conductividad afecta el desarrollo de los estamentos poblacionales de *Eisenia foetida*, presentando también restricción en su uso al momento de ser empleado como enmienda orgánica en el suelo. La dosis de compost que puede añadirse a un suelo debe ser proporcional a la CE del compost; la salinidad en la solución del suelo podría dificultar la absorción de agua por las raíces de las plantas, en

esas condiciones, sólo prosperan las especies resistentes a la concentración de sales. El volumen total de agua empleado durante todo el proceso en TA fue de 120 m<sup>3</sup>, mientras que en TB fue de 84 m<sup>3</sup>.

El pH se incrementó en el lavado y descendió en el inoculado con valores no muy distantes entre sí al final del proceso, ambos compostes alcanzaron la fase estacionaria de pH próximo a la neutralidad, en la que se estabiliza la materia orgánica y se producen reacciones lentas de policondensación (fase de alcalinización). Estos valores coinciden con los hallazgos de otros autores que manifiestan que la disminución del pH, puede estar asociada con la mineralización de los compuestos de ácidos orgánicos, nitrógeno, fósforo, incremento de la actividad microbiana y producción de sustancias húmicas (Escudero de Fonseca y Arias, 2012).

Ambos compost después de 14 semanas de degradación, alcanzan una relación C/N cercana a la óptima teórica de 15 (Zamora - Nahum *et al.*, 2005). Al igual valores menores a 15 han sido obtenidos en 12 semanas (Cariello *et al.*, 2007).

En la práctica, se suele considerar que un compost es suficientemente estable o maduro cuando la relación C/N es menor a 20, aunque esta es una condición necesaria pero no suficiente. Al inocular el tratamiento TB con microorganismos benéficos, se buscó asegurar el control permanente de vida microbiana conjuntamente con la aireación mediante los volteos, suministrando oxígeno a la microbiota para su desarrollo y proliferación, incidiendo esta sobre la reducción de la relación C/N, es posible que a medida que aumenta la actividad de los microorganismos, la acumulación de CO<sub>2</sub> también incrementa y consecuentemente la calidad del compost y su madurez se garantizan cuando este elemento disminuye a lo largo del proceso de compostaje (Medina Lara *et al.*, 2017).

En base a los resultados obtenidos en ambos tratamientos se puede decir que es posible compostar excreta de vacuno sin material de soporte. Aunque la relación C/N como indicador de madurez es relativa, debido a que materiales con carbono en formas resistentes pueden llegar a valores superiores a 20, a la vez valores entre 15 a 20 son indicadores de buena calidad en un compost.

En cuanto a la cuantificación de elementos (Cuadro, 21) las diferencias registradas en los porcentajes de elementos del compost prelavado son la resultante de la adición de mayores volúmenes de agua 120 m<sup>3</sup>, para propiciar el lavado de cationes solubles y por

ende su disminución, en este tratamiento se cuantificó menores porcentajes de sodio, magnesio, calcio y potasio, siendo este último elemento el que más disminuyó a partir de su porcentaje inicial pero se mantuvo en ambos compost con porcentajes similares. La pérdida de los elementos descritos podría ser innecesaria ante la opción del empleo de microorganismos benéficos.

En relación a las sustancias húmicas ANEXO, 11. El tratamiento TB (compost inoculado) mostró valores de 3,66 % de ácidos fúlvicos, 1,47 % ácidos húmicos y 39,75 % de huminas como resultado de la mayor mineralización producida por el efecto del inóculo a comparación de los porcentajes cuantificados en el compost lavado en el cual se cuantificó 3,51 % de ácidos fúlvicos, 1,31 % ácidos húmicos y 41,62 % de huminas, esto puede deberse al menor grado de descomposición del compost, presentando mejor indicador de calidad el compost de TB.

La identificación de los microorganismos que intervienen en el proceso de compostaje es complicada, debido a que las poblaciones y las comunidades varían continuamente en función de la evolución de las distintas variables: temperatura, nutrientes, oxígeno, contenido de agua, pH, etc; al igual que en su producto final. Las bacterias y hongos emplean la materia orgánica como fuente principal de alimento, debido a que esta, les aporta nitrógeno y energía sin ella la actividad bioquímica sería prácticamente nula. En el proceso de degradación algunos nutrientes nitrógeno, fósforo y el azufre son transformados en formas más asimilables (Uribe *et al.*, 2001).

Al inicio del proceso se contabilizaron  $61,2 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$  de bacterias,  $25 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$  de hongos y  $5 \times 10^3$  UFC  $g^{-1}$  de actinomicetos en excreta de vacuno sin tratamiento. Al final del compostaje se obtuvo la reducción de UFC de bacterias totales y hongos, mientras que, la concentración de UFC de actinomicetos incrementó. La cuantificación de bacterias en TA (compost prelavado) fue de  $5,8 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$  de bacterias  $3,5 \times 10^4$  UFC  $g^{-1}$  de hongos y  $1,4 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$  de actinomicetos. En TB (compost inoculado) se cuantificó  $22,1 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$  de bacterias,  $3,2 \times 10^4$  UFC  $g^{-1}$  de hongos y  $1,30 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$  de actinomicetos

Como puede observarse, es clara la diferencia entre la carga microbiana de los compost resultantes, TA muestra menor población microbiana producto de su pretratamiento. Zhong *et al.* (2018), al compostar estiércol vacuno identificaron del *phylum* de actinobacterias, los géneros *Corynebacterium*, *Thermopolyspora* y *Thermomonospora*,

estas dos últimas especies fueron identificadas durante la fase termófila, debido a que crecen entre los 45 - 55 °C.

Escudero de Fonseca y Arias (2012), determinaron una población de actinomicetos igual a  $34 \times 10^6$  UFC g<sup>-1</sup>, al compostar residuos vegetales esta concentración resultó ser superior a la identificada en los compost de TA y TB. No obstante, los investigadores observaron que las UFC de actinomicetos tienden a descender cuando la temperatura del compost disminuye a 30 °C. Además, dentro de los grupos identificados observaron que la mayor parte pertenecían al género *Streptomyces*.

En compost de residuos de banano, pulpa de café, vacuno y gallinaza se identificó la presencia de actinomicetos correspondientes a los géneros *Nocardia* y *Streptomyces*. Estos producen un olor característico a tierra mojada, una importante característica de este género la producción de antibióticos, debido a la emisión de compuestos volátiles (Escobar *et al.*, 2012). En general, estos microorganismos son capaces de degradar sustancias complejas, como lignocelulosa, quitina y peptidoglicanos, contribuyendo notablemente, a la mineralización de estos compuestos durante el compostaje y cuando el sustrato es aplicado en el suelo.

En torno a la eliminación de patógenos se logró la reducción total de *Escherichia coli* ANEXO, 7 y 8, a partir de  $27 \times 10^4$  ANEXO, 2, se logró la sanitización de la pila obteniendo temperaturas superiores a 50 °C en ambos tratamientos, *Salmonella* sp., no fue identificada durante todo el proceso compostaje, lo cual sugiere que no se provocó contaminación cruzada externa.

En bases a las propiedades fisicoquímicas el compost del tratamiento TA presentó mejores indicadores de calidad que TB; sin embargo, en este tratamiento se cuantificaron mejores propiedades microbiológicas. A pesar de ello, ambos sustratos fueron cualificados aptos como materia prima para la nutrición de *Eisenia foetida* iniciando la Fase experimental II.

#### **4.2 Fase experimental II: estimación del efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre su crecimiento, desarrollo y las características fisicoquímicas y biológicas del vermicompost enriquecido**

Del efecto de interacción de *Eisenia foetida* con los microorganismos benéficos y *Bacillus* sp., se obtuvieron diferencias significativas al término del experimento para cada uno de sus estamentos poblacionales, cuantificados en base a sus edades: prereproductiva y reproductiva (Schuldt, 2006) teniendo en cuenta sus cuatro estamentos poblacionales.

En todo el sustrato (5 kg) procesado por la lombriz se cuantificó:

- Cocones (sin eclosionar y eclosionados)
- Juveniles (animales recién eclosionados, hasta aproximadamente 1,5 cm).
- Subadultos (mayores a 1,5 cm y generalmente con tallas inferiores a 3 cm sin clitelo).
- Adultos (organismos con clitelo) y cocones (con contenido y sin contenido)

A continuación, se detallan las diferentes respuestas obtenidas para cada uno de los estamentos poblacionales.

##### **a. Evaluación del número de cocones a nivel de laboratorio**

Se puede apreciar en el Cuadro 22, que la inoculación tanto del consorcio como de las cepas de *Bacillus* sp., influyen sobre la capacidad reproductiva de la lombriz, siendo el tratamiento MMZ seguido de MBZ, los tratamientos que presentaron mayor cantidad de cocones 421 y 393 respectivamente, difiriendo ambos en un cercano porcentaje del 6 % y en un 28 % en producción con respecto a su testigo (303) empleando compost inoculado (TB).

Estos resultados se deben al alto contenido de materia orgánica, a las condiciones abióticas del medio y posiblemente al valor nutricional que adiciona los inóculos microbianos y la excreta de vacuno, puesto que en los tratamientos con compost lavado (TA), se observa un similar comportamiento con una diferencia del 14,48 % en producción.

La población de cocones de lombrices varía significativamente con un ( $p < 0,001$ ) debido a los diferentes tipos de inóculos empleados y sistema de producción. La mayor cantidad de cocones (eclosionados 218 y sin eclosionar 303) se cuantificó cuando se

reinocula el consorcio de microorganismo benéficos sobre el compost trabajado anteriormente con el mismo consorcio, se deduce una fuerte interrelación de *Eisenia foetida* con los microorganismos que conforman este consorcio, bajo el sistema de producción tradicional en zanja, además este tipo de compost incrementa la palatabilidad de la lombriz por su contenido de materia orgánica y carga microbiana, por el contrario, menor número de cocones se registra en el sistema techo a dos aguas en los tratamientos TLT (Testigo Lavado en Techo a dos aguas), LMT (compost Lavado inóculo MB en Techo a dos aguas) y LBT ( Lavado inóculo *Bacillus* sp., en Techo a dos aguas), todos con compost lavado.

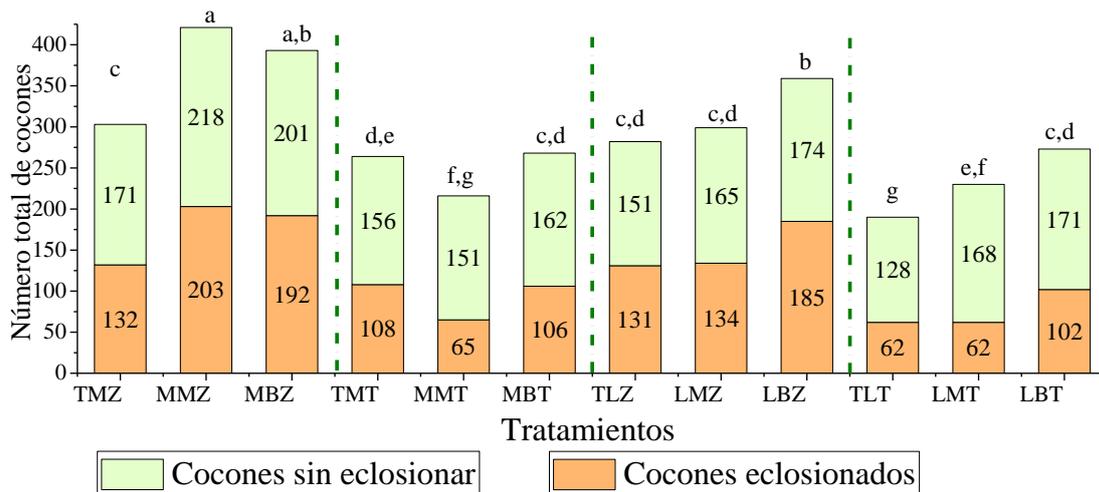
El promedio de cocones a los 60 días de inoculadas las lombrices con sus respectivas repeticiones en cada uno de los tratamientos se muestra en el Cuadro 22.

**Cuadro 22. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre el número de cocones obtenidos en el sistema en zanja y techo a dos aguas a nivel de laboratorio**

Tratamientos	Nº de cocones		Total
	Ecllosionados	Sin ecllosionar	
TMZ	132 b	171 b,c	303 c
MMZ	203 a	218 a	421 a
MBZ	192a	201 a,b	393 a,b
TMT	108 c	156 c	265 d,e
MMT	65 d	151 c,d	216 f,g
MBT	106 c	162 c	267 c,d
TLZ	131 b	151 c,d	282 c,d
LMZ	134 b	165 c	299 c,d
LBZ	185 a	174 b,c	360 b
TLT	62 d	128 d	190 g
LMT	62 d	168 c	230 e,f
LBT	102 c	171 b,c	273 c,d

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ), empleando ajuste de modelo a través de la regresión binomial negativa de Pearson

El potencial de reproducción incrementa, sí al sustrato se adiciona inoculación microbiana, la cual aumenta el líbido de la lombriz promoviendo el incremento de cocones, así como también, su reproducción está relacionada al tipo de sustrato empleado (estiércol de vacuno compostado e inoculado) junto con el sistema de producción (zanja).



**Figura 35. Efecto de la interrelacion de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre el número de cocones eclosionados y sin eclosionar con sus respectivos niveles de significancia pertenecientes a su número total cuantificado a nivel de laboratorio**

A nivel de laboratorio los resultados obtenidos en el incremento del número de cocones se corroboran con los obtenidos por Das *et al.* (2016) quienes cuantificaron un total de 188 cocones producidos por 50 lombrices a nivel de laboratorio en tan solo 40 días, empleando un consorcio microbiano compuesto por *Trichoderma viridae*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus polymixa* y *Bacillus firmus* en una mezcla de excreta de vacuno, jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) y paja de arroz. Además, los investigadores resaltan que mayor productividad de cocones se obtuvo al emplear todos estos microorganismos en un consorcio microbiano que al inocularlos individualmente cada microorganismo, lo cual se relaciona de cierta forma con esta investigación.

El sistema en zanja propicia mejores condiciones para la incubación y posterior eclosión de los cocones. Dado que permite mayor control de los factores abióticos (temperatura, pH, y humedad). Este último parámetro en el sistema techo a dos aguas tiende a decaer a mayor velocidad, afectando la producción de cocones, lo cual se reflejó en las medias cuantificadas en los tratamientos pertenecientes a este sistema de producción, sin duda alguna la disminución del porcentaje de humedad (inferior al 70 %) afecta directamente en la productividad de cocones (Venter y Reinecke, 1988).

En relación al sustrato, se debe tener presente que cuando un sustrato es de mala calidad las lombrices tienden a perder el clitelo que las identifica como organismos reproductores, desarrollándose nuevamente cuando se alimentan o reciben un sustrato

de mejor calidad retardando la puesta de cocones y tamaño de cocón. Ante esto Schuldt (2006) argumentó que además de la falta de alimento o la disminución de su calidad, factores como la relación C/N, CE, pH, entre otros parámetros del sustrato contribuyen a la reducción en la frecuencia de puesta de cocones.

Garg *et al.* (2006) en sus hallazgos al experimentar por 15 semanas con *Eisenia foetida* bajo dieta de diferentes tipos de excretas de animales (caballo, burro, cabra, camello, oveja, búfalo y vaca) registraron ganancia de biomasa de lombriz, incremento de su madurez sexual reflejada en la producción de cocones, en base al tipo de sustrato empleado, contabilizando una producción máxima en cocones  $155 \pm 18,36$  en la excretas de vaca, mientras que la producción mínima de cocones  $62 \pm 23,57$  se registró en las excretas de búfalos. El número de cocones producidos por lombriz por día en los diferentes estiércoles fue del orden: oveja > vaca  $\approx$  caballo, cabra > camello > burro > búfalo, sin aplicación de ningún tipo de inóculo.

En base a los resultados obtenidos por estos autores, se podría concluir que una dieta basada en un solo tipo de estiércol perteneciente a la misma especie permite obtener un mejor crecimiento de las lombrices, que al mezclar diferentes tipos de estiércol, sin dejar de tener presente que el sustrato contribuye con el crecimiento de la lombriz y su reproducción, sin embargo, esta no garantiza que la producción de cocones sea superior (Schuldt, 2006).

Se debe tener en consideración, que la producción semanal de cocones por adulto decae a lo largo de la vida de la lombriz a medida que envejece, un promedio citado por Schuldt (2006) es de 2,45 cocones por semana, con un máximo semanal de 4,9 cocones entre los 80 y 90 días de vida libre obteniéndose mayor productividad en su etapa reproductiva (Venter y Reinecke, 1988).

En base a las medias cuantificadas por estos autores, podríamos calcular que, durante un período de experimentación de 60 días, es probable la producción de 19,6 cocones por cada lombriz. Por consiguiente, al tener 50 lombrices, es posible la puesta de 980 cocones aproximadamente. Comparando este valor hipotéticamente calculado con los resultados de esta investigación (421 cocones) se obtiene un 50 % inferior al descrito por Venter y Reinecke (1988).

En resumen, la información propuesta no es siempre unívoca ya que a su vez hay muchos factores que podrían influir en la puesta de cocones como se mencionó anteriormente. El mejor sistema para productividad de cocones a nivel de laboratorio fue el sistema en zanja empleando como inóculo el consorcio de microorganismos benéficos. No obstante, al inocular *Bacillus* sp., se observa menor interrelación con *Eisenia foetida*, ya que las puestas disminuyen en un 14,48 % en producción.

## **b. Evaluación estamentos poblacionales a nivel de laboratorio**

### **Juveniles**

El estiércol de vacuno compostado es un material de alta digestibilidad por proceder de un rumiante, en el cual juega un papel importante la microflora del rumen. Este material inoculado con microorganismos, provoca que la lombriz lo consuma en menor tiempo, en mayor cantidad produciendo mejor nutrición en el anélido y por consiguiente incremento en su crecimiento.

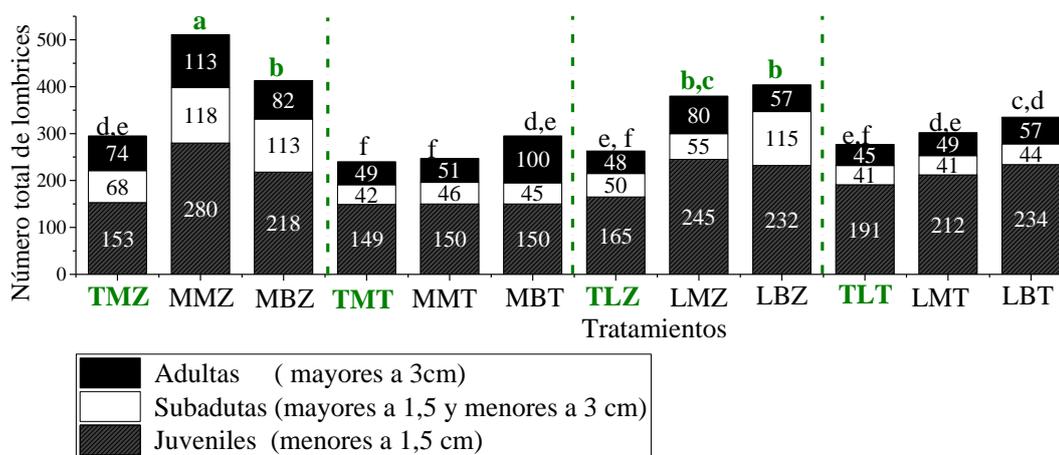
**Cuadro 23. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre el número total de lombrices juveniles, subadultas y adultas cuantificado en el sistema en zanja y techo a dos aguas a nivel de laboratorio**

<b>Tratamientos</b>	<b>Número de lombrices</b>			
	<b>Juveniles</b>	<b>Subadultas</b>	<b>Adultas</b>	<b>Total</b>
TMZ	153	68	74	295
MMZ	280	118	113	510
MBZ	218	113	82	413
TMT	149	42	49	240
MMT	150	46	51	247
MBT	150	45	100	295
TLZ	165	50	48	264
LMZ	245	55	80	380
LBZ	232	115	57	404
TLT	191	41	45	276
LMT	213	41	49	302
LBT	234	44	57	335

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ), empleando ajuste de modelo através de la regresión binomial negativa de Pearson

Al cuantificar el número de lombrices juveniles (animales recién eclosionados, hasta aproximadamente 1,5 cm) a nivel de laboratorio, se observa que la tendencia del número de lombrices juveniles sigue a la del mayor número de cocones eclosionados registrados tanto para el compost inoculado y lavado en los mismos tratamientos. La

mayor cuantificación del número de lombrices juveniles 280, se relaciona con el mayor número de cocones eclosionados 203, correspondientes al tratamiento MMZ, mientras que el tratamiento LMZ con compost lavado a en zanja registra 245 lombrices juveniles provenientes de la eclosión de 134 cocones, sin embargo, marcadas diferencias se observan al comparar los tratamientos con sus respectivos testigos, en los cuales también se produce la eclosión de cocones, pero con menor cantidad de lombrices juveniles 149 como se observa en el tratamiento TMT (Cuadro 23).



**Figura 36. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus sp.*, y microorganismos benéficos sobre el número total de lombrices con sus respectivos niveles de significancia a nivel de laboratorio**

Se asume, la eclosión de cocones fue afectada en el sistema techo a dos aguas debido a la marcada diferencia de factores como son: la temperatura, el pH y la humedad óptima su incubación (60 - 70 %), así como también, a la falta de inóculo suministrado en los tratamientos testigos que aportaron en la nutrición y desarrollo de la lombriz en base a sus componentes microbianos.

Edwards (1998), indica que las lombrices emplean los microorganismos de los sustratos como fuente de alimento y pueden digerirlos de manera selectiva. Al inocular los sustratos, estos se tornan más nutritivos para las lombrices promoviendo su desarrollo en crecimiento y productividad de puestas. Los resultados indicaron la existencia de interrelación de *Eisenia foetida* tanto con los microorganismos benéficos y *Bacillus sp.*, pero este difiere en base al tipo de compost empleado algo similar ha sido demostrado por Kumar *et al.* (2011) al experimentar con la lombriz *Drawida willsi*. El pH este se mantuvo en el rango de 6 a 7,7 no obstante, la lombriz roja californiana requiere un pH mayor de 5 y menor de 9 para su buen crecimiento (Kumar *et al.*,2011).

## Subadultas

Se observa que la inoculación tanto de microorganismos benéficos como de *Bacillus* sp., tiene efecto sobre el desarrollo de la lombriz, habiendo similar interrelación de la lombriz roja californiana en compost inoculado (TB), sin embargo, su crecimiento en compost lavado (TA), incrementa con el empleo de cepas de *Bacillus* sp. Se aprecia que el desarrollo de los organismos juveniles alcanza valores máximos en el tratamiento MMZ (compost MB más inóculo MB en zanja) 118, seguido de LBZ (compost Lavado más inóculo *Bacillus* sp., en zanja) 115 y MBZ (compost MB más inóculo *Bacillus* sp., en zanja) con una media de 113 lombrices subadultas. Sin embargo, menor número de lombrices subadultas se registró en TMT (Testigo compost MB en Techo a dos aguas) 42, LMT (compost Lavado más inóculo MB en Techo a dos aguas) y LBT (compost Lavado más inóculo *Bacillus* sp., en Techo a dos aguas) con 41 organismos, no obstante, mayor número de estos organismos se cuantificó en el sistema en zanja a comparación con el sistema techo a dos aguas.

Como se evidenció anteriormente, la mayor cantidad de cocones y lombrices juveniles se registró en los tratamientos trabajados con excreta inoculada con microorganismos benéficos. En conclusión, el enriquecimiento microbial promovió el crecimiento de los organismos, lo cual se corrobora con el menor número de lombrices subadultas cuantificadas en los testigos sin inoculación alguna TLT (compost Testigo Lavado en Techo a dos aguas).

El crecimiento de las lombrices juveniles hasta alcanzar la longitud de organismos subadultos, permite cualificar a los sustratos como aptos para la dieta de *Eisenia foetida*, asumiendo que el sustrato aportó positivamente en la nutrición de las lombrices juveniles y posterior crecimiento alcanzando al término de los 60 días de experimentación, el estamento poblacional de organismos subadultos, en base al cual los organismos presentaron longitudes mayores a 1,5 y menores a 3 cm.

Se ha demostrado que al emplear inóculos de microorganismos especializados en la degradación de materia orgánica, mejora el aporte nutritivo del sustrato para la lombriz, similar comportamiento, se observó al emplear *Trichoderma viridae*, un microorganismo que es capaz de acelerar el compostaje de sustratos orgánicos, al transformar los complejos celulosa y lignina con sus enzimas celulolíticas, igualmente que al emplear microorganismos solubilizadores de potasio y fosfato como *Bacillus*

*firmus* y *polymixa* respectivamente, estos incrementan el contenido de los elementos en el vermicompost mejorando sus condiciones en el producto final. Se conoce que la alimentación influye no sólo el tamaño de la población de lombrices, sino también, sus tasas de crecimiento y reproducción.

### **Adultas**

Con respecto a la cuantificación de las lombrices adultas se obtuvo un incremento del 51 % del número de lombrices adultas al término de la experimentación en el tratamiento MMZ con 113 lombrices, seguido del tratamiento MBT y MBZ, en los tres tratamientos se empleó el compost inoculado. Se cuantificó un óptimo desarrollo de la lombriz, debido a que este organismo logró alcanzar su madurez sexual al término de los 60 días exhibiendo la formación de su clitelo y una longitud igual o mayor a 3 cm para ser catalogadas dentro de este estamento poblacional (Domínguez *et al.*, 2005).

Los tratamientos con menor cantidad de lombrices e inferior al número se cuantificaron en los tratamientos LMT 49, TLZ 48 y TLT 45. Sin embargo, en estos tratamientos el número de lombrices subadultas próximas a adultas se registra alrededor de 41 en LMT, 50 en TLZ y 41 en TLT. La fuga de lombrices resultó ser baja produciéndose un 9 % de pérdida de organismos dentro de las unidades experimentales únicamente en el tratamiento TLT. Una de las posibles causas de la fuga de lombrices es la elevación de la temperatura a partir de los 34 a 36 °C las lombrices tienden a alejarse del núcleo térmico (Schuldt, 2006).

En condiciones óptimas el ciclo de vida de una lombriz dura entre 40 - 50 días (Schuldt, 2006). Razón por la cual se pudo cuantificar el número de lombrices adultas totales al término del período de 60 días de la investigación, esta cuantificación permitió identificar la influencia del sustrato alimenticio para su crecimiento, de igual manera mayor desarrollo de los organismos se observó en el sistema en zanja.

Se concluye, que el sustrato pretratado (seis semanas) y compostado (ocho semanas) probado a nivel de laboratorio bajo el sistema en zanja, es viable para la alimentación de la lombriz, sin embargo, se debe tener en consideración que factor influye en su fuga.

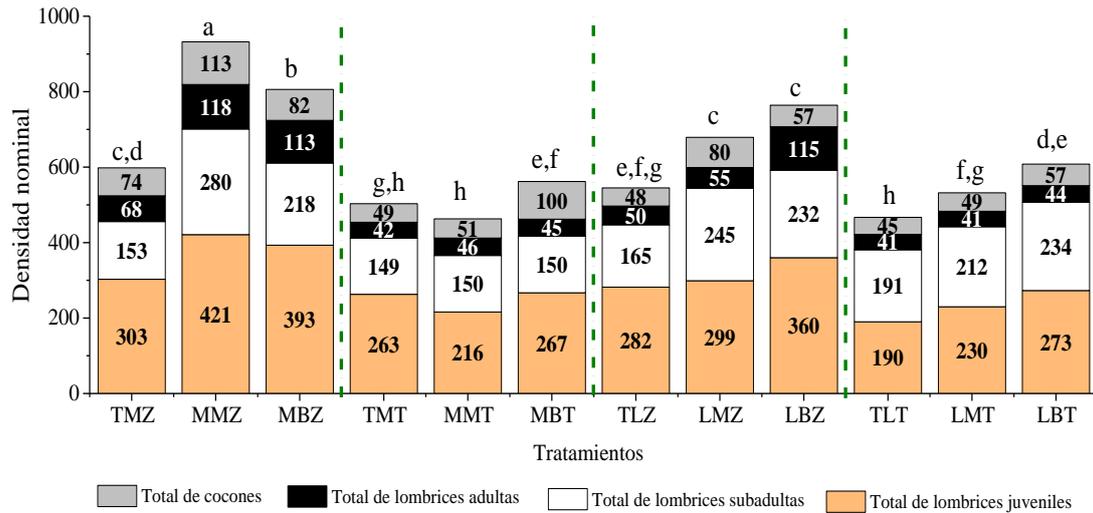
**c. Evaluación de la densidad nominal de lombrices en las unidades experimentales a nivel de laboratorio.**

**Cuadro 24. Efecto de interrelación de Eisenia foetida con Bacillus sp., y microorganismos benéficos sobre la población nominal en el sistema en zanja y techo a dos aguas a nivel de laboratorio**

Tratamientos	Población nominal	
TMZ	645	cd
MMZ	931	a
MBZ	805	b
TMT	503	gh
MMT	464	h
MBT	563	ef
TLZ	547	efg
LMZ	697	c
LBZ	704	c
TLT	467	h
LMT	532	fg
LBT	604	de

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ), empleando ajuste de modelo a través de la regresión binomial negativa de Pearson

En el tratamiento MMZ (compost MB más inóculo MB en Zanja) registra la mayor cantidad de lombrices totales (juveniles, subadultas y adultas) con una población de 931 individuos. Seguido, en el nivel de significancia B por los tratamientos MBZ con 805 y LBZ 704 lombrices, en el nivel de significancia F el tratamiento LBT presentó únicamente 604 individuos. Se asume que inoculación microbiana contribuye al crecimiento de lombrices, ya que estas se interrelacionan con mayor facilidad con los diferentes microorganismos que conforman el consorcio, al igual que estos influyen en su desarrollo y reproducción al ser ingeridos en su tracto intestinal incrementando la reproducción de la lombriz roja californiana en sus estamentos poblacionales como se muestra en el Cuadro 24 y Figura 37.



**Figura 37. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus sp.*, y microorganismos benéficos sobre estamentos poblacionales para determinación de densidad poblacional nominal con sus respectivos niveles de significancia a nivel de laboratorio**

El potencial que ejerce la inoculación microbiana conjuntamente con el tipo de sustrato empleado en el desarrollo y reproducción de *Eisenia foetida*, es similar, al demostrado por Das *et al.* (2016).

El sistema en zanja a comparación del sistema techo a dos aguas se registra incremento de la densidad poblacional, debido a que se propicia mejores condiciones tanto para la incubación y eclosión de cocones, permitiendo tener mayor control de los factores abióticos, los cuales influyen en el desarrollo de cada uno de los estamentos poblacionales. No obstante, mayor palatabilidad desarrolló la lombriz por el compost inoculado a diferencia del compost lavado.

La mayor densidad poblacional total se cuantificó en los tratamientos reinoculados durante el proceso de vermicompostaje con el mismo consorcio de microorganismos benéficos, a diferencia en los tratamientos con compost lavado. Las tasas de crecimiento o madurez de las lombrices y las posibilidades de manipulación del entorno nutricional, constituyen un campo amplio en la investigación. El contrastar diversas dietas a escala de laboratorio es útil antes de su utilización a mayor escala.

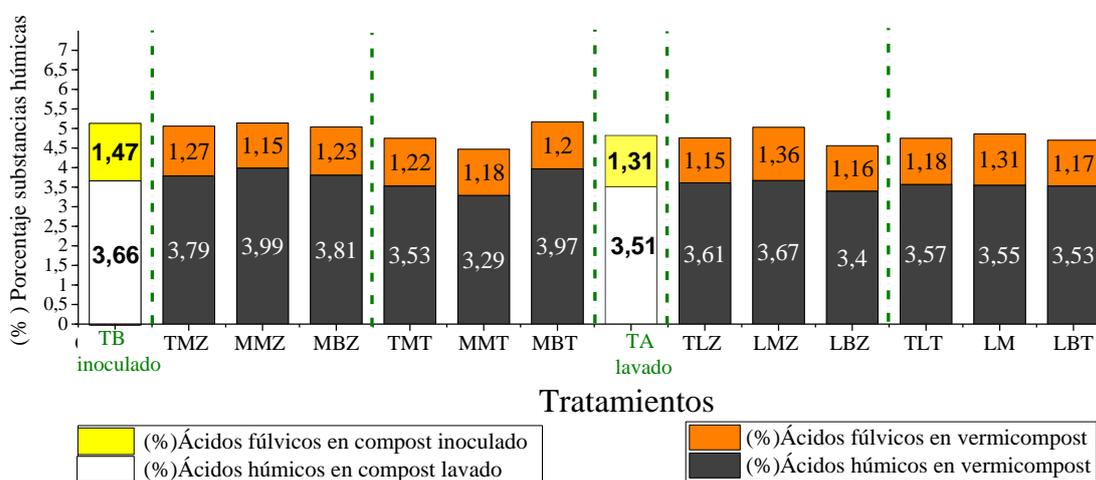
#### **d. Determinación de ácidos húmicos, fúlvicos y huminas a nivel de laboratorio.**

Los resultados obtenidos en base al contenido de sustancias húmicas sugieren que la calidad de los vermicompost incrementa cuando estos son trabajados bajo la técnica de inoculación microbiana, cuyos agentes biológicos promueven mayor transformación de

la materia orgánica, la cual incrementa su contenido de sustancias húmicas, siendo este un estímulo para ser aplicado en la agricultura para la adaptación de las plantas, crecimiento y desarrollo de cultivos, puesto que las sustancias húmicas tienen la posibilidad de influir directamente en el metabolismo de las plantas (Izquierdo *et al.*, 2017).

**Cuadro 25. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus sp.*, y microorganismos benéficos sobre los porcentajes de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas evaluados en las unidades experimentales de vermicompost a nivel de laboratorio**

Tratamientos	Ácidos húmicos (%)	Ácidos fúlvicos (%)	Huminas (%)
MMZ	3,99	1,15	35,74
MBT	3,97	1,2	36,44
MBZ	3,81	1,23	38,27
TMZ	3,79	1,27	38,47
LMZ	3,67	1,36	34,23
TLZ	3,61	1,15	34,25
TLT	3,57	1,18	38,95
LMT	3,55	1,31	38,77
TMT	3,53	1,22	36,17
LBT	3,53	1,17	35,63
LBZ	3,4	1,16	35,02
MMT	3,29	1,18	39,32



**Figura 38. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus sp.*, y microorganismos benéficos sobre los porcentajes de ácidos húmicos, fúlvicos presentes en el compost y en el producto final vermicompost a nivel de laboratorio**

El tratamiento MMZ (compost MB más inóculo MB en Zanja) registró el porcentaje más alto de ácidos húmicos y menores en ácidos fúlvicos y huminas con un valor de 3,99 % 1,15 % y 35,74 % comparados a los valores iniciales del compost inoculado procedente del tratamiento TB 3,66 %, 1,47 %, 41,62 %. La mayor parte de tratamientos

incrementaron su porcentaje de ácidos húmicos y fúlvicos pertenecen al sistema en zanja. Mayor cantidad de sustancias húmicas influye la actividad de la  $H^+$  ATPasa, la cual puede energizar el transporte del ion secundario y promover la absorción de los nutrientes, promoviendo el crecimiento vegetal a través de la inducción del metabolismo del carbono y nitrógeno. La nitrato reductasa, la glutamato deshidrogenasa y glutamina sintetasa son enzimas vinculadas a vías de asimilación y mejoramiento de N el cual inside en el desarrollo de los cultivos (Canellas *et al.*,2015).

#### **4.2.1 Respuesta de variables: efecto de interrelación de *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos con *Eisenia foetida* sobre su crecimiento y desarrollo a escala piloto**

Al igual que a nivel de laboratorio a escala piloto se experimentó la interacción de *Eisenia foetida* con microorganismo benéficos y *Bacillus* sp., pero en un menor tiempo (40 días), por muestreo se determinó el número total de cocones, el número total lombrices (juveniles, subadultas y adultas) (Schuldt, 2006) por cada unidad experimental en sus tres repeticiones para finalmente cuantificar su densidad poblacional.

A escala piloto se observa que la mayor puesta de cocones empieza alrededor del quinto día después de iniciado el proceso de vermicompostaje en las unidades experimentales siendo muy escasas al inicio. Sin embargo, Duran y Henriquez (2009) han identificado este proceso alrededor del séptimo y décimo día de experimentación.

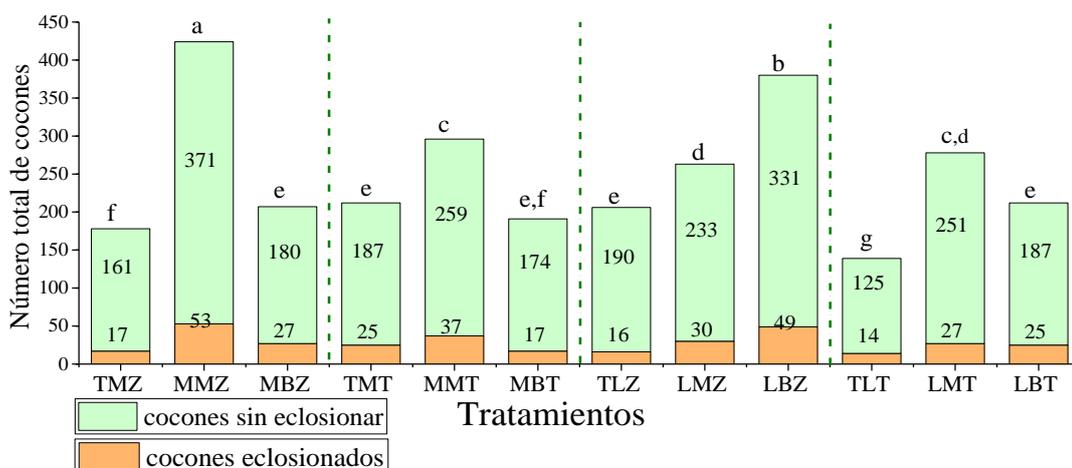
##### **a. Evaluación del número de cocones a escala piloto**

Al término del proceso de vermicompostaje escala piloto se cuantificó el número total de cococes diferenciándolos entre cocones sin eclosión (sin contenido) y cocones eclosionados (con contenido). La puesta de cocones fue más marcada en los tratamientos inoculados que en aquellos que no recibieron inoculación. Se verificó que los inóculos estimularon a la producción de cocones, cabe mencionar que igual comportamiento se observó a nivel de laboratorio (Cuadro, 26)

**Cuadro 26. Efecto de interrelación de Eisenia foetida con Bacillus sp., y microorganismos benéficos sobre el número de cocones obtenidos en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto**

Tratamientos	Sin eclosionar	Eclosionados	Total
TMZ	161 e	17 e	178 f
MMZ	371 a	53 a	424 a
MBZ	180 de	27 c	207 e
TMT	187 d	25 cd	212 e
MMT	259 c	37 b	296 c
MBT	174 de	17 de	191 ef
TLZ	189 d	16 e	205 e
LMZ	233 c	30 bc	263 d
LBZ	331 b	49 a	380 b
TLT	125 f	14 e	140 g
LMT	251 c	27 c	278 cd
LBT	187 d	25 c	212 e

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ), empleando ajuste de modelo a través de la regresión binomial negativa de Pearson



**Figura 39. Efecto de interrelación de Eisenia foetida con Bacillus sp., y microorganismos benéficos sobre número de cocones eclosionados y sin eclosionar cuantificado a escala piloto**

La cantidad total de cocones al término del proceso permitió evaluar el nivel reproductivo de la lombriz roja californiana y a la vez identificar el sistema más viable para la reproducción en escala real. En el tratamiento MMZ (compost con MB más inóculo MB en Zanja), registró una media de 424, seguido del tratamiento LBZ (compost Lavado mas inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) 380 cocones. Finalmente, el tratamiento TLT (compost Testigo Lavado en Techo) con 140 cocones como se observa en la Figura, 39. De manera similar a escala piloto como en laboratorio, el tratamiento

MMZ registró la mayor cantidad de cocones eclosionados 424 y sin eclosionar 421 respectivamente. De los tratamientos estructurados con el compost procedente del pretratamiento lavado, el tratamiento LBZ presentó la mayor cantidad de cocones 380 a escala piloto, mientras que a nivel de laboratorio se cuantificaron 360 cocones ocupando el tercer lugar en producción a nivel de laboratorio y el segundo a escala piloto (Figura, 39).

El tratamiento MMZ y el tratamiento presentaron una diferencia de 12,80 % en producción de cocones dentro del sistema en zanja. A diferencia de los tratamientos MMT (composts MB con inóculo MB nivel Techo) y LMT (compost lavado más MB a nivel Techo) en los cuales se registró una disminución del porcentaje de producción alrededor de 31,30 y 34,56 % respectivamente.

En relación a los datos asociados a la menor productividad de cocones se registró en el tratamiento TLT (Testigo compost Lavado a nivel Techo) con un porcentaje inferior del 66,24 % en producción, al igual que exhibió a nivel de laboratorio con la menor cantidad de cocones. Con respecto al tiempo de puesta de los cocones Das *et al.* (2016), sostiene que la calidad bioquímica del sustrato influye para determinar cuando una lombriz puede alcanzar su madurez sexual (desarrollo de clitelo) para la producción y puesta de cocones. Además, se observó mayor productividad de cocones en el compost inóculado con microorganismos benéficos y reinoculado con el mismo consorcio durante el proceso de vermicompostaje.

La mayor cantidad de cocones se registró en el sistema en zanja, debido a que este sistema propició mejor control de los factores abióticos (agua, luz, pH, humedad, oxígeno, nutrientes y temperatura). La temperatura ambiental osciló entre 25 a 31 °C, acorde el reporte del SENAMHI contribuyendo también con la producción y a la vez incubación de cocones dentro de este sistema.

Otro factor importante relacionado con esta productividad fue el porcentaje de humedad puesto que en las unidades de experimentación del sistema en zanja este parámetro se mantuvo entre 59 a 66 %, constante mientras que en el sistema techo a dos aguas tendió a disminuir de manera más rápida manteniéndose entre 57 - 62 % como consecuencia de la infiltración. A esto, Karaca (2011) indicó que al controlar a niveles óptimos los distintos factores abióticos y bióticos se podría reducir el tiempo de crecimiento,

madurez sexual de lombriz, así como también, el tiempo de incubación de los cocones provocando de esta manera el incremento en la fecundidad de la lombriz.

Con respecto al sustrato, Das *et al.* (2016), afirmaron que el empleo de material de soporte como por ejemplo; residuos de aserrín, restos de poda de vegetación etc. interfiere en la producción de cocones debido a la mayor relación C/N que presentan estos materiales. La excreta al no mezclarse con material extra se degradó de forma más rápida alcanzando una relación C/N igual a 15,32. Sin embargo, se ha reportado mayor mineralización neta de N en los estiércoles ocurre cuando estos presentan relaciones C:N menores de 13 (del Pino *et al.*, 2008).

Al iniciar el experimento con una relación C/N de 15,32 se constató que la lombriz no rechazó el sustrato como materia prima, cualificándolo como apto para el proceso de vermicompostaje, teniendo en cuenta otras variables como pH y CE; sin dejar de considerar que la calidad bioquímica y la apetecibilidad del sustrato podría afectar directamente el potencial de reproducción de las lombrices, cuando la excreta no recibe un pretratamiento (Suthar, 2009).

Suthar y Singh (2008), experimentaron el incremento del número de cocones al inocular 50 lombrices por 30 días, en 5 kg paja de trigo junto a 500 g de micelio (*Pleurotus sajor-caju*, *Tricoderma harzianum*, *Aspergillus chroococcum*, *Aspergillus niger*) e inoculando 50 mL / kg de (*A. chroococcum*) con una concentración  $10^6$  mL<sup>-1</sup>. Además, observaron que la producción de cocones incrementó en mayor porcentaje al trabajar con los microorganismos en consorcio que individualmente. Producto de sus hallazgos reportaron un incremento total de 47 cocones, partiendo de este dato se podría calcular que al inocular 1000 lombrices es probable la obtención 940 cocones mensualmente (Das *et al.*, 2016). Por otro lado, Bhat *et al.* (2016), cuantificaron  $23,0 \pm 1,73$  cocones por lombriz en 45 días de experimentación.

Venter y Reinecke (1988), encontraron que la tasa de producción de cocones en estiércol vacuno osciló entre 3,5 cocones por lombriz en un período de 10 días. Garg *et al.* (2005) en sus hallazgos al experimentar durante 15 semanas, empleando cinco lombrices no cliteladas por cada 100 gramos de estiércol vacuno bajo condiciones de laboratorio obtuvieron una producción de 21,8 cocones, es decir, que si hubieran

trabajado con 1000 lombrices podrían haber obtenido un estimado de 1162 cocones totales aproximadamente.

Con respecto a su eclosión, Schuldt (2006) ha reportado que los cocones eclosionan pasados los 23 días y que este período puede ser tomado como una media de referencia, aunque se han registrado eclosiones en períodos más prolongados por otros autores, por ejemplo; Garg *et al.* (2005), indicaron que la eclosión de cocones al experimentar con diferentes tipos de estiércoles comenzó al día 28 en el estiércol de caballos, burros, ovejas y cabras; y alrededor del día 35 en estiércol de vacas, búfalos y camellos.

#### **b. Evaluación número de lombrices juveniles, subadultas y adultas a escala piloto**

Al igual que a nivel de laboratorio se tomó en consideración que lombrices recién eclosionadas presentan una longitud de 4 mm por lo general y que para ser catalogadas como juveniles debían alcanzar longitudes inferior a 1,5 cm (Schuldt *et al.*, 2005). Se registraron cinco niveles de significancia (Cuadro 27).

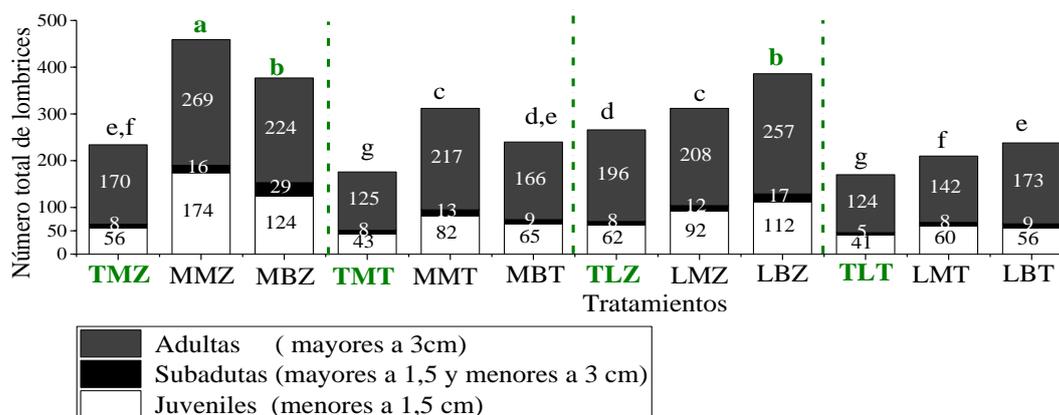
El tratamiento MMZ presentó 174 organismos juveniles seguido de los tratamientos MBZ con 124 y LBZ 112 lombrices juveniles. Finalmente, los tratamientos TMT con 43 y el TLT 41 organismos (ver Figura 40).

El mejor sistema de producción y a la vez que brindó el mejor ambiente apropiado para incubación y eclosión de cocones fue el sistema en zanja bajo condiciones reales de campo, la diferencia porcentual encontrada entre los tratamientos MMZ (compost MB más inóculo MB en Zanja) y TLT (compost Testigo Lavado sin inóculo en Techo a dos aguas) fue de 79 % entre ambos. Con respecto, al número de lombrices juveniles cuantificadas. En este último tratamiento TLT del sistema techo a dos aguas se cuantificaron solo 41 lombrices por muestreo.

**Cuadro 27. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre el número total de lombrices juveniles, subadults y adultas obtenido en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto**

Tratamientos	Juveniles	Subadultas	Adultas
TMZ	56 d	8 cd	171 d
MMZ	174 a	16 b	269 a
MBZ	124 b	29 a	224 b
TMT	43 e	8 cd	125 e
MMT	82 c	13 bc	217 bc
MBT	65 d	10 c	166 d
TLZ	62 d	9 cd	196 c
LMZ	92 c	12 bc	208 bc
LBZ	112 b	17 b	257 a
TLT	41 e	5 d	125 e
LMT	60 d	8 cd	142 e
LBT	56 d	9 cd	173 d

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ), empleando ajuste de modelo a través de la regresión binomial negativa de Pearson



**Figura 40. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre número total de lombrices con sus respectivos niveles de significancia a escala piloto**

A escala piloto se observó la eclosión de cocones a los 23 días, en la mayoría de las unidades experimentales como ha sido registrado por otros investigadores como media de incubación de cocones (Venter y Reinecke, 1988). Sin embargo, no todas las lombrices alcanzaron la longitud de 1,5 cm debido a que pudo haberse retardado su eclosión, al no presentarse optimas condiciones abióticas, especialmente en el sistema techo a dos aguas, así como también, pudo haberse generado stress en las lombrices. Se constató la viabilidad de compost de vacuno procedente de los tratamientos TA y TB como componente de la dieta de *Eisenia foetida*, en función de que el sustrato propició su crecimiento una vez eclosionadas las lombrices.

Con respecto a las lombrices subadultas, se encontraron cuatro rangos de significancia (Cuadro 27). En el nivel de significancia A únicamente se ubicó el tratamiento MBZ con una media de 29, seguido en el nivel de significancia B con los tratamientos LBZ 17, MMZ 16. Finalmente, con el menor número de lombrices están los tratamientos LBT con 9 lombrices, mientras que en TLZ, TMT, LMT y TMZ se cuantificaron 8 lombrices, el menor número se cuantificó en TLT 5 lombrices adultas. Se observa que el mayor crecimiento de las lombrices juveniles hasta alcanzar el estamento de subadultas propuesto por Schuldt *et al.*, (2005) (longitud mayor a 1,5 cm) se propició en los tratamientos también pertenecientes al sistema en zanja.

A pesar de la eclosión de los cocones a los 23 días, período similar al registrado por Domínguez *et al.*, (2010), quienes describieron una media entre 18 a 26 días. Se cuantificó menor número de este estamento, puesto que la investigación tuvo una duración de 40 días a escala piloto. Sin embargo, los organismos especialmente en los compost inoculados escaso organismos alcanzaron longitudes superiores a los 3 cm.

Un hallazgo importante, en los tratamientos en los cuales se inoculó *Bacillus* sp., fue que estos presentaron la mayor cantidad de lombrices subadultas. Por consiguiente, una ventaja del uso de *Bacillus* sp., es que estos microorganismos presentan la propiedad de actuar como probióticos lo cual puede influir beneficiosamente en el organismo huésped, mejorando su equilibrio intestinal y crecimiento, no obstante, se debe conocer que no todas las cepas de *Bacillus* poseen igual competencias probióticas por la cual debería de realizarse su caracterización molecular antes de ser empleadas, se asume por consiguiente que la cuantificación de lombrices subadultas en los tratamientos MBZ (composta MB más inóculo *Bacillus* sp., en zanja ) y LBZ (compost Lavado más inóculo *Bacillus* sp., en zanja) se debió a la influencia posible que ejerce este microorganismo como probiótico (Lee *et al.*, 2012).

Con respecto de las lombrices adultas a partir de los resultados de LSD de Fisher ( $\alpha=0,05$ ) para la variable número de lombrices adultas. En el nivel de significancia A se ubicó el tratamiento MMZ con una media de 269 seguido de LBZ con 257. Finalmente, en el nivel de significancia E se registraron los tratamientos LMT 142, TLT 125 y TMT 125 lombrices adultas, mayor cantidad de especies adultas de las 1000 inoculadas al inicio de la experimentación se cuantificó en los tratamientos en el sistema en zanja, mientras que en los tratamientos a nivel de techo se registraron menores cantidades de organismos (Cuadro 27).

En el tratamiento MMZ por muestreo se cuantificó 269 lombrices adultas, mientras que, TMT registró únicamente 125 lombrices adultas. Una de las razones para que en los muestreos se hallan recolectado menor cantidad de adultos, tiene relación directa entre la habilidad que poseen las lombrices para migrar en busca de mejor sustrato, así como también, mejores condiciones abióticas (Valencia *et al.*, 2014).

En cambio, mayores temperaturas, menores porcentajes de humedad fueron evaluados durante el proceso de vermicompostaje en el sistema techo a dos aguas. La fuga de lombrices reflejó menor cantidad de sustancias húmicas determinadas en los vermicompost procedentes de los tratamientos; por ejemplo, en el tratamiento TMT se registró 4,59 % de ácidos húmicos y 1,66 % de ácidos fúlvicos, menores porcentajes en relación al tratamiento MMZ en el cual se registró 5,20 % de ácidos húmicos, y 1,61% de ácidos fúlvicos. Como se puede apreciar en el Cuadro 27, por lo tanto, mayor formación de sustancias húmicas en el mismo tiempo de vermicompostaje puede atribuirse a la mayor cantidad de lombrices que intervinieron en la descomposición, al igual que los menores porcentajes pueden relacionarse a una menor cantidad de lombrices adultas.

### **c. Evaluación de la densidad nominal y efectiva a escala piloto**

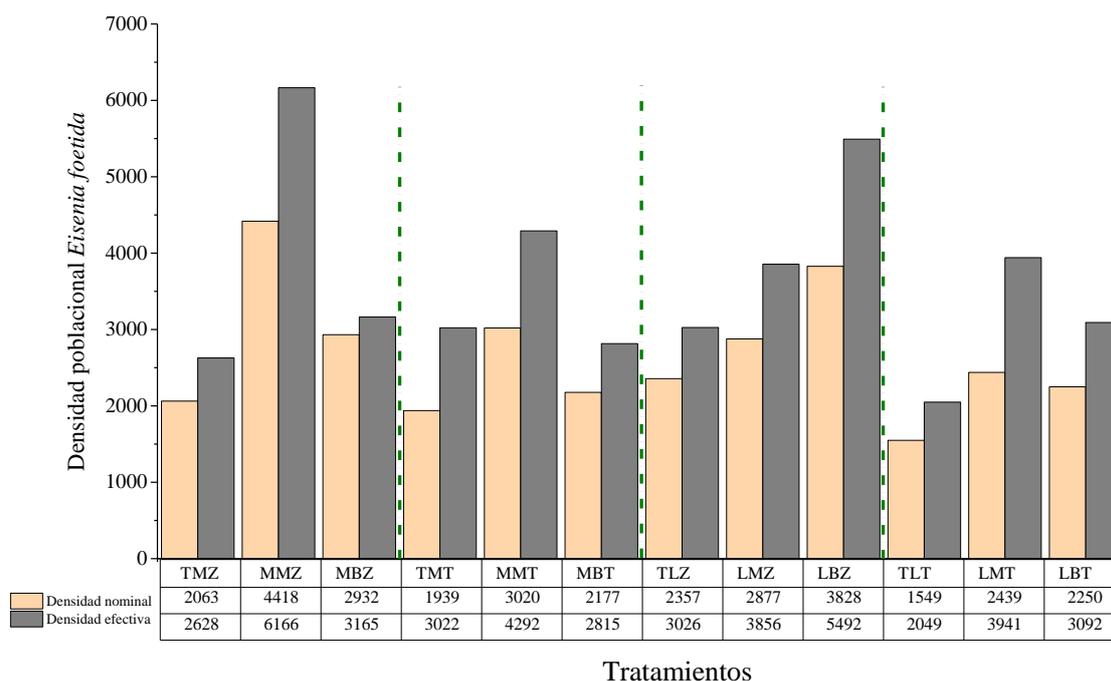
Al final de la experimentación con el objetivo de evaluar el incremento de los estamentos poblacionales de *Eisenia foetida*, se procedió a calcular la densidad nominal (dn), puesto que es muy empleada en la lombricultura. Además, se calculó su densidad efectiva (de), bajo la determinación fehaciente en el marco del tipo de dieta específica empleada (compost de vacuno).

Identificar las densidades permitió evaluar la capacidad de porte de lombrices, se conoce como lombrices por lecho o sector (lombrices / L o lombrices/S) (Schuldt *et al.*, 2005). La determinación de la estructura de una población dn y de requiere uniformar criterios para la toma de muestras, razón, por lo cual en 1988, Schuldt propuso el empleo de un extractor de 7,5 cm de lado con una superficie de 0,005625 y con un volumen de 422 cm<sup>3</sup> (Schuldt *et al.*, 2005).

**Cuadro 28. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre la población nominal y efectiva en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto**

Tratamientos	Densidad nominal	Densidad efectiva
TMZ	2063 gh	2628 g
MMZ	4418 a	6166 a
MBZ	2932 c	3165 e
TMT	1939 h	3023 ef
MMT	3020 c	4293 c
MBT	2177 fg	2815 fg
TLZ	2358 de	3026 ef
LMZ	2878 c	3856 d
LBZ	3829 b	5492 b
TLT	1549 i	2050 h
LMT	2440 d	3942 cd
LBT	2251 ef	3092 ef

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ), empleando ajuste de modelo a través de la regresión binomial negativa de Pearson



**Figura 41. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre determinación de densidad nominal y efectiva de *Eisenia foetida* a escala piloto**

En lo que respecta a la inoculación con microorganismos benéficos, en la experimentación a escala piloto se verificó que incremento del número de especies conjuntamente con el de cocones tanto en los tratamientos que se empleó microorganismos benéficos y *Bacillus* sp, de igual manera que a nivel de laboratorio

Para la densidad nominal a escala piloto (Cuadro 28) se registró nueve niveles de significancia. En el nivel de significancia A se registró el tratamiento MMZ (compost MB mas inóculo MB en Zanja), este presentó la mejor diferencia estadística entre los tratamientos y a su vez la mayor cantidad de lombrices por unidad de experimentación, con una media de (4418), seguidos en el nivel de significancia B por los tratamientos LBZ (excreta pretatada con Mob's mas inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) con una media de (3829) y finalmente en el nivel de significancia I se ubicó el tratamiento TLT con (1549) lombrices. En cuanto al tratamiento MMZ presentó un 38,37 % de diferencia con los otros tratamientos, el tratamiento con menor número de estamentos poblacionales fue el tratamiento TLT (Testigo compost Lavado en Techo a dos aguas). (Ver Figura, 41).

Al calcular la densidad efectiva y aplicando LSD de Fisher ( $\alpha=0,05$ ) se encontró ocho niveles de significancia. En el nivel de significancia A se ubicó el tratamiento MMZ con una media de 6166 organismos, seguido en el nivel de significancia B por los tratamientos LBZ con 5492 organismos. En el nivel de significancia C se ubicaron los tratamientos MMT 4293 organismos. Por último, en el nivel de significancia G se cuantificó en TLT 2049 lombrices (ver Cuadro 28).

Respecto a la densidad nominal y efectiva, los tratamientos: MMZ (compost MB mas inóculo MB en Zanja) seguido del tratamiento LBZ (compost Lavado más inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) presentaron mayor (de) con una diferencia del 11,15 % entre tratamientos (ver Cuadro 28). Los tratamientos MMT (compost MB mas inóculo MB nivel Techo) y LMZ (compost Lavado mas inóculo MB en Zanja) ocupó el tercer lugar con menores densidades, estos difirieron en 32,04 %, en producción con respecto a los tratamientos MMZ y LBZ.

Como se puede observar en el Cuadro 28 y Figura 49, en el tratamiento MMZ presentó una media de 4418 lombrices, mientras que LBZ registró 3829 organismos. Con respecto a la densidad efectiva estos registraron entre 6166 y 5492 organismos respectivamente.

Duran y Henriquez (2009), al estudiar el crecimiento y reproducción de *Eisenia foetida* en cinco diferentes sustratos orgánicos, registraron 13776 lombrices / 0,3 m<sup>3</sup> durante tres meses en vermicompost de vacuno. Al estimar su población en 40 días de

experimentación probablemente se obtendrían 6122 organismos. Consecuentemente, este resultado coincidiría con el obtenidos en este trabajo durante los 40 días.

Un cultivo de lombrices con alta densidades puede alcanzar densidades promedio de 30.0 mil a 40.0 mil L/ m<sup>3</sup> / año. Al cuantificar la población anual, en base a la población obtenida se tendría 4418 por 12 meses de producción alrededor de 53016 lombrices, concluyéndose que la densidad obtenida en esta experimentación podría ser exitosa comparada con la población indicada por los investigadores debido a que sobrepasa en un 32,54 % (Compagnoni y Putzolu, 2001).

Es necesario especificar que se debe contrastar tanto el tamaño de la densidad nominal y efectiva, debido a que en esta última se reporta, el total del número de lombrices presentes en cada unidad experimental. A lo cual, Schuldt *et al.* (2005), señalan que no parece adecuado considerar que pueda reemplazar a la densidad nominal, por la gran variabilidad que se observa en la densidad relativa de *Eisenia foetida*. Por lo general, es recomendable tener presente el valor de densidad nominal como un valor más constante frente a los posibles sesgos que se dan al considerar la densidad efectiva (Schuldt *et al.*, 2005).

En condiciones reales de campo la determinación de las densidades poblacionales permite tener mayor control de los estamentos poblacionales. No obstante, una alta densidad puede afectar de manera negativa la puesta de cocones, siendo este un punto clave para establecer nuevascama de vermicompostaje y a la vez no afectar la reproducción de *Eisenia foetida* ni de su desarrollo. Por el contrario, cuando se trabaja con en bajas densidades las lombrices aumentan rápidamente en población (Schuldt, 2006).

Un factor que contribuye con el incremento de los estamentos poblaciones es el tipo de sustrato empleado, debido a que la lombriz puede mineralizar el estiércol de ganado de manera más fácilmente que otros desechos orgánicos, ya que es estiércol posee mayor población de microorganismos descomponedores como, por ejemplo, bacterias, protozoos, nematodos, hongos, actinomicetos que contribuyen a la descomposición influyendo una dieta con estiércol de vacuno en su crecimiento y reproducción (Suthar, 2009).

Suthar y Singh (2008) registraron mayores tasas de mineralización de nutrientes y de humidificación en las unidades experimentales al mezclar lodos industriales procedentes de destiladoras con estiércol vacuno en combinaciones de 20 % de lodos industriales más 80 % de estiércol vacuno, al igual que si se combinaban 40 % de lodos con un 60 % de estiércol vacuno. Lo que indica que la composta del estiércol vacuno sin material de soporte podría ser una buena opción como sustrato para las lombrices y mejorar aún si se inocula microorganismos como lo ratifica el tratamiento MMZ (compost MB mas inóculo MB en Zanja) demostrándose la viabilidad como dieta para la lombriz a escala piloto. Estos resultados cuantificados a escala real tienen aplicación práctica para los productores de vermicompost, puesto que ofrece una pauta de la producción de biomasa de lombriz como pie de cría o como una prueba piloto de producción comercial para emplear mayores volúmenes de compost de vacuno enriquecido e inoculado durante el proceso de vermicompostaje.

En base a los resultados se asume que la densidad poblacional en los diferentes tratamientos presentó diferencias significativas que los estamentos poblacionales fueron diferentes en ambos sistemas de producción tanto en zanja como en techo a dos aguas. Schuldt, (2006) también sostiene que una condición favorable dentro de un sistema de producción, con lleva a una mayor fertilidad, reproducción constante, por lo cual es importante controlar los factores como la temperatura, el pH, el porcentaje de humedad del sustrato.; en esta experimentación en base al manejo y al enriquecimiento que se propició durante el vermicompostaje al compost.

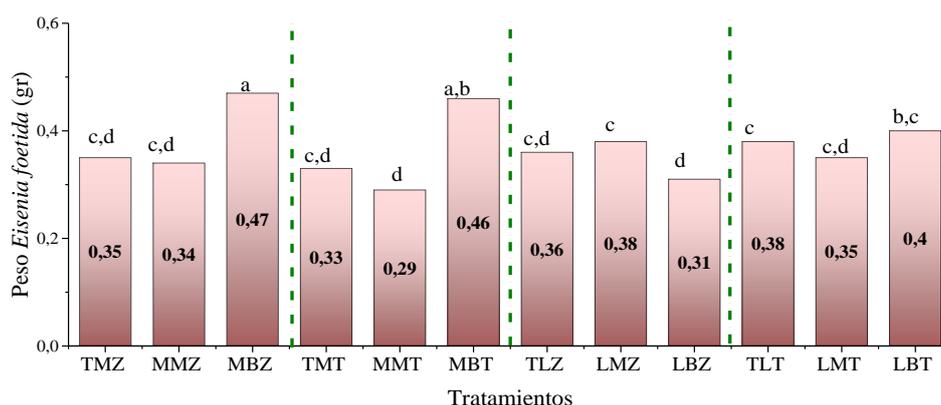
#### **d. Evaluación del peso promedio de las lombrices a escala piloto (lombrices adultas)**

Se obtuvieron cuatro niveles de significancia con un coeficiente de variación de 11,52 como se detalla en el Cuadro 29.

**Cuadro 29. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus sp.*, y microorganismos benéficos sobre peso a escala piloto**

Tratamientos	Peso de lombrices (g)
TMZ	0,35 cd
MMZ	0,34 cd
MBZ	0,47 a
TMT	0,33 cd
MMT	0,29 d
MBT	0,46 ab
TLZ	0,36 cd
LMZ	0,38 c
LBZ	0,31 d
TLT	0,38 c
LMT	0,35 cd
LBT	0,4 bc

Los valores son promedio de cinco repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ )



**Figura 42. Comparación de medias usando la prueba LSD de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ) para peso de lombriz roja de californiana a escala piloto**

En el nivel de significancia A se ubican los tratamientos MBZ y MBT con una media de 0,47 gr y 0,46 g. Para el nivel de significancia B se localizan los tratamientos MBT 0,46 g y LBT 0,4 g. En el nivel de significancia D lo comparten los tratamientos TLZ 0,36 g, LMT 0,35 g, TMZ 0,35 g, MMZ 0,34 g, TMT 0,33 g, LBZ 0,31 g siendo MMT 0,29 g en el tratamiento que se registró el peso más bajo (Ver, Figura 42). Sin embargo, mayor peso promedio individual de las lombrices 0,47g fue registrado en el tratamiento MBZ (compost MB mas inóculo *Bacillus sp* en Zanja) seguido del tratamiento MBT (compost MB mas inóculo *Bacillus sp* en Techo a dos aguas) (0,46).

Como se observa en el Cuadro 29, los pesos más altos corresponden al rango de 0,47 a 0,36 g, mientras que los más bajos se registraron en el rango de 0,35 a 0,29 g. Los pesos registrados estarían relacionados, de acuerdo a lo sostenido por Duran y Henriquez (2009), al comportamiento inverso entre reproducción y peso de los individuos, es decir que a mayor reproducción menor peso sería el registrado. No obstante, entre los tratamientos que registraron mayor productividad de cocones estuvieron los tratamientos MMZ (424 cocones) con un peso de 0,34 g, LBZ (380 cocones) con un peso de 0,31 g, MMT (296 cocones) con un peso de 0,29 g, LMT (278 cocones) con un peso de 0,35 g.

Santamaría Romero y Cerrato (2002) reportan diferencias de peso de 0,23 - 0,49 g por individuo adulto. Para este experimento, los valores generales de peso de lombrices promedio por individuo, alcanzaron un mínimo de 0,29 g y un máximo de 0,47 g. Estos datos difieren del ámbito propuesto por Schuldt (2006), quien reporta valores entre 0,3 y 1,4 g para esta variable. No obstante Duran y Henriquez (2009), reportan valores de 0,36 - 0,42 g.

Otro factor que influyó en el peso pudo haber sido el pretratamiento de lavado de la excreta, la cual presentó tamaños de partículas mayores que la excreta pretratada sin lavado e inoculada con microorganismos benéficos. El tamaño de partícula pudo haber intervenido en la palatabilidad de las lombrices lo cual repercutió en la producción de cocones, crecimiento de las lombrices (Duran y Henriquez, 2009).

Karaca (2011) indicó que el tamaño de partícula del sustrato es ideal para el crecimiento de la lombriz, particularmente en la especie endogenicas, encontró que lombriz *Allolobophora chlorótica*, alimentada con partículas sólidas de estiércol de ganado molino (con un diámetro < 1 mm) y sin moler, aumentó su masa media en un 185 % con individuos clitelados después de 10 y 18 semanas en los tratamientos molidos que en los tratamientos sin moler. Neuhauser *et al.* (1980), del mismo modo indicó que tamaño de partícula es un factor importante en la nutrición de *Eisenia foetida*, asumiendo que su peso generalmente aumenta con una disminución de tamaño de partícula.

El no haber incorporado material extra e inoculado microorganismos benéficos favoreció a la transformación de la excreta en compost y posteriormente en vermicompost. Una explicación tentativa sostenida por Suthar (2009) es que mayor contenido de material de soporte extra, afecta en la eficiencia de minimización de

residuos por parte de las lombrices, debido a que el material extra incrementa el contenido de grandes fracciones de algunas sustancias tornándolas más lentamente degradables como: lignina, celulosa, compuestos polifenólicos, semicelulosas, suberinas, etc, lo cual podría tener influencia directamente en la nutrición de la lombriz.

Se debe recalcar que el estiércol de una misma especie (vacuno) posee efectos distintos sobre el crecimiento de *Eisenia foetida*, según la dieta que reciben las vacas y el manejo que se le dé al estiércol. Schuldt *et al.* (2005) encontró que el peso de la lombriz esta relacionado en el estiércol de vacuno, con el contenido elevado en carbohidratos que tiene. Además, las lombrices consumen las bacterias del ciclo del carbono y favorecen el desarrollo de las del nitrógeno.

Por el contrario, Neuhauser *et al.* (1980) indicó que alimentos que se metabolizan muy fácilmente por los animales en general, tales como albúmina, caseína o sacarosa, son tóxicos para *Eisenia foetida*. La causa exacta de la toxicidad es desconocida, pero puede ser debido a procesos fermentativos y putrefactivos que pueden ocurrir en el intestino de la lombriz o en su entorno.

#### **4.2.2 Efecto de los sistemas tradicional en zanja y techo a dos aguas sobre las características físicoquímicas del vermicompost enriquecido a escala piloto**

La evaluación de las variables físicoquímicas al final del proceso de vermicompostaje se realizó para identificar los cambios producidos de la materia prima (compost pre-lavado e inoculado con microorganismos benéficos) que ingresó al proceso. Ampliando el conocimiento sobre del papel que desempeñan las lombrices en la transformación de la materia orgánica al interrelacionarse con microorganismos benéficos y *Bacillus* sp., bajo dos sistemas diferentes de producción (zanja y techo a dos aguas).

A continuación, se describe el comportamiento de cada una las variables.

##### **a. Evaluación final de la conductividad eléctrica, pH y porcentaje de humedad en el vermicompost obtenido a escala piloto**

La discusión de los resultados se hará por separado, la variación de la CE, el pH y del porcentaje de humedad en cada uno de los vermicompost obtenidos se observa en el cuadro 30, la actividad de las lombrices y su interrelación con los microorganismos inoculados no afecta el pH de los sustratos, puesto que estos organismos realizan

controles fisiológicos en su estructura interna, como la secreción de calcio intestinal y la excreción de  $\text{NH}_4 - \text{N}$  para mantener un pH neutro en su tracto digestivo, así como también en el sustrato (Lim *et al.*, 2015) sin embargo, el porcentaje de humedad si influye sobre la concentración de sales.

**Cuadro 30. Efecto de interrelación de Eisenia foetida con Bacillus sp., y microorganismos benéficos sobre CE, pH y porcentaje de humedad de los vermicompost obtenidos en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto**

Tratamientos	CE ( $\text{dS m}^{-1}$ )	pH	Humedad (%)
TMZ	2,87 abc	7,79 ab	68,53 a
MMZ	2,45 a	7,49 b	63,50 abcd
MBZ	2,79 ab	7,91 a	62,48 abcd
TMT	3,32 cd	7,82 ab	53,79 bcd
MMT	3,17 cd	8,01 a	51,65 d
MBT	3,09 bcd	7,62 ab	53,07 cd
TLZ	2,7 ab	7,74 ab	68,68 a
LMZ	2,92 abc	7,91 a	66,10 abc
LBZ	2,53 a	7,87 ab	66,80 ab
TLT	3,46 d	7,59 ab	63,67 abcd
LMT	3,43 d	7,81 ab	52,34 d
LBT	3,45 d	7,63 ab	51,98 d
CV	9,71	3,13	13,04
p- value	0,0012	0,343	0,0389

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ )

### Conductividad eléctrica

El proceso de reducción de la CE se dió a partir de  $11,92 \text{ dS m}^{-1}$ , valor identificado en la excreta sin tratamiento, a valores de  $4,88 \text{ dS m}^{-1}$  en TA (compost prelavado) y  $5,8 \text{ dS m}^{-1}$  en TB (compost inoculado), hasta alcanzar valores finales entre el rango de  $2,45$  a  $3,46 \text{ dS m}^{-1}$ , en los vermicompost obtenidos. Todo el proceso en el cual se obtuvo la reducción de la CE duró 138 días.

El nivel de sales solubles fue menor en los tratamientos del sistema en zanja ( $1\text{m} \times 1\text{m} \times 0,45\text{m}$ ), los cuales mantuvieron porcentajes de humedad más altos a comparación con el sistema techo a dos aguas (Cuadro 30) otro factor que influyó en la reducción de este parámetro fue la presencia de las lombrices, MMZ (compost MB más inóculo Mobs en Zanja) con densidad nominal de 4626 lombrices exhibió una disminución de  $5,89$  a  $2,45$

dS m<sup>-1</sup>, mientras que LBZ (compost Lavado más inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) con una densidad nominal de 3835 lombrices exhibió una reducción de 4,88 a 2,53 dS m<sup>-1</sup>.

Similares descensos de CE fueron encontrados a escala piloto por Mitchell (1997), quien experimentó con volúmenes de 0,09, 0,19 y 0,22 m<sup>3</sup> de estiércol vacuno partiendo de una concentración de sales de 5 dS m<sup>-1</sup>, empleando sistemas de lechos en forma: horizontal (1,5 m x 1,5 m x 0,3 m), surco (3,0 m x 1,5 m x 0,25 m) y vertical (1,5 m x 1,5 m x 0,2 m) logrando obtener valores de 2,5 dS m<sup>-1</sup>, 3,1 dS m<sup>-1</sup> y 3 dS m<sup>-1</sup> respectivamente. Así mismo, Mousavi *et al.* (2017) al vermicompostar mezclas de estiércol de vacuno pretratado (90 %) con de residuos ornamentales (10 %), reportó una reducción de 2,3 dS m<sup>-1</sup>.

En esta investigación el valor más bajo registrado fue de 2,45 dSm<sup>-1</sup> (ver Figura 43). Los valor iniciales 4,88 y 5,89 dSm<sup>-1</sup> fueron tolerables para la lombriz roja californiana, de igual manera Mitchell (1997) en su experimentación trabajó con un valor similar. Para Edwards *et al.* (2011) al producir vermicompost con estiércol animal sin pretratamiento, se corre el riesgo de que su concentración total de sales minerales, tanto aniones como cationes, puedan tornarse tóxicos para estos organismos y alcanzar en el producto final niveles que pueden inhibir el crecimiento de las plantas, no obstante, el sistema en zanja permitió un mejor control sobre este parámetro y a su vez los tratamientos inoculados mostraron mayores niveles de reducción a diferencia de los testigos y del sistema empleado.

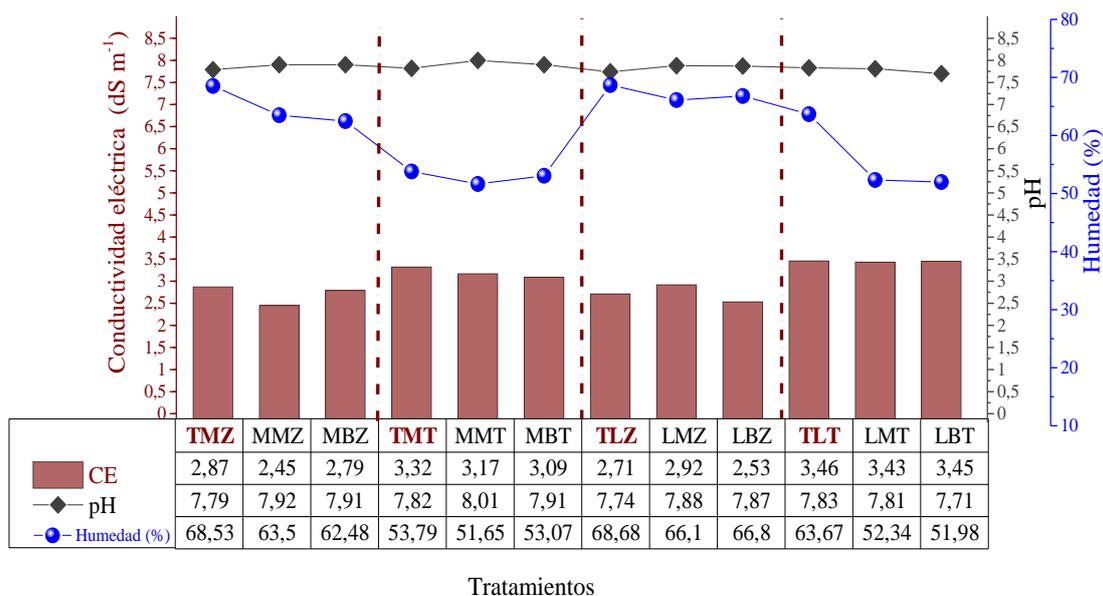
Majlessi *et al.* (2012) al vermicompostar residuos de alimentos durante siete semanas registró un descenso a partir de 7,5 a 4,9 dS m<sup>-1</sup>. De igual modo, la CE tiende a disminuir mientras más prolongado se torne el proceso. Albanell *et al.* (1988) al vermicompostar estiércol ovino con una CE de 1,56 a la cuarta semana este parámetro disminuyó a 1,16 dS m<sup>-1</sup>, en la sexta semana a 1,14 dS m<sup>-1</sup> y finalmente en la octava semana a 1 dS m<sup>-1</sup>. Por el contrario, Kaviraj y Sharma (2003) al vermicompostar residuos sólidos urbanos (RSU), observaron el incremento de la CE en sus unidades experimentales de 1,60 – 1,86 dSm<sup>-1</sup> en el caso de *E. foetida*, y de 1,64 dSm<sup>-1</sup> a 1,73 dSm<sup>-1</sup> en *L. mauritii* a nivel de laboratorio.

## pH

El rango de variación del pH oscila entre valores de 7,49 a 8, como se observa en la Figura 43, los valores más altos se observan en los tratamientos MMT (compost MB más inóculo MB nivel Techo), LMZ (compost Lavado inóculo MB en Zanja) y MMZ (compost MB inóculo MB en Zanja), mientras que, MMZ (compost MB más inóculo MB) presenta un valor más cercano a la neutralidad de 7,49. No se hallaron diferencias significativas, sin embargo, un posible factor que influye en el descenso del pH, es la mineralización de nitrógeno en nitrito / nitratos y del fósforo en ortofostatos, así como también, la bioconversión de la materia orgánica en especies intermedias de ácidos orgánicos (Ndegwa y Thompson, 2001). Los valores obtenidos son similares a los de Kumar y Shweta (2011) de 7,1 y 8,2.

Los resultados encontrados para pH podrían explicarse como consecuencia de la acción de las lombrices y al contenido de su microflora metabólicamente más activa, así como también, al metabolismo de los microorganismos inoculados, los cuales tienen la propiedad de degradar compuestos orgánicos lábiles como aminoácidos, permitiendo la liberación de nitrógeno amoniacal, y por tanto la alcalinización del residuo (Gómez-Brandón *et al.*, 2010). Además, la reducción del pH pudo haber sido propiciada por la formación de iones amonio, por el desarrollo y presencia de grupos carboxílicos, por los grupos fenólicos en los ácidos húmicos, formación de CO<sub>2</sub> producto del metabolismo microbiano y descomposición microbiana e igualmente por la conversión del nitrógeno y el fósforo (Akbar Babael *et al.*, 2016).

Las lombrices son organismos capaces de mantenerse en lechos ácidos con pH de 5 e inferiores a este, hasta un pH más alcalino próximo a 9, reduciendo los valores extremos con la segregación de enzimas producto de su propio metabolismo (Schuldt, 2006). Adicionalmente, Kaushik y Garg (2004) sostienen que la producción de CO<sub>2</sub> durante el proceso de bioconversión del sustratos por parte de los organismos está también ligada a esta reducción.



**Figura 43.** Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre variación de la conductividad eléctrica, pH y porcentaje de humedad al final del proceso de vermicompostaje en cada una de las unidades experimentales en zanja y techo a dos aguas

### Porcentaje de humedad

La variable porcentaje de humedad al final del proceso de vermicompostaje presenta diferencias estadísticas significativas (Cuadro, 30). En el nivel de significancia A se ubican los tratamientos: MBZ 68,68 %, MMZ con 68,53 %, mientras que en el nivel de significancia D se ubican los tratamientos MMT 51,65 %, TMT 53,79 % y MMT 51,65 %. (ver Figura 43).

Los tratamientos en zanja tienen un promedio de 66,21 %, mientras que en el sistema techo dos aguas 54,22 %. Los valores obtenidos pueden ser considerados como normales, debido a que el vermicompostaje requiere una humedad entre 60 al 80 %, contrario al porcentaje que requiere el proceso de compostaje del 40 hasta 60 %. No obstante, en un rango de 50 hasta 90 % de humedad *Eisenia foetia* puede sobrevivir (Wani *et al.*, 2013), otros autores manifiestan que un rango óptimo de humedad oscila entre el 60 y 90 % (Fernández-Gómez *et al.*, 2010).

En la Figura 43 se observa la tendencia de disminución en el sistema techo a dos aguas y de incremento en el sistema en zanja, esta diferencia entre ambos sistemas se debe a que una gran fracción de la humedad del sustrato en el sistema techo a dos aguas se pierde de igual manera como sucede en el suelo y que ha sido descrito por Wang *et al.*

(2012) a través de la evaporación directa, del incremento de difusión de vapor, así como también debido a mayores temperaturas registradas en este sistema.

Otro factor que influye es la cubierta del sistema sobre sustrato a manera de techo, en contraste con el sistema en zanja en donde la mayor amplitud la unidad experimental permitió mejor dispersión tanto de la temperatura del sistema como de la aportada por las condiciones climatológicas propias de la temporada de verano.

Se debe tener presente que a medida que las deyecciones de la lombriz envejecen, hay una posible pérdida de humedad que conduce a la disminución de la población microbiana; razón por la cual la inoculación contribuiría en la proliferación de microorganismos benéficos. Consecuentemente, al producirse la reducción de la actividad microbiana también se produciría una reducción de la actividad enzimática y del contenido de NPK (nitrógeno, fósforo y potasio).

La pérdida de humedad en las deyecciones de la lombriz envejecidas implica la pérdida de nitrógeno con la volatilización, la lixiviación y la desnitrificación razón por la cual el contenido de humedad debe ser controlado con el objetivo de tener menor pérdida de nutrientes (Parthasarathi y Ranganathan, 1999). Se concluye que el sistema en zanja permite mantener mayores porcentajes de humedad pero deberían ser controlados para evitar la pérdida de elementos por lixiviación.

Los valores de CE guardan relación con los porcentajes de humedad, los cuales influyen en su disminución, al igual con las concentraciones de calcio, potasio y sodio también influyen en su concentración, no obstante, partiendo del valor obtenido se califica al vermicompost en base a su concentración de sales  $2,45 \text{ dS m}^{-1}$ , con un buen indicador de calidad, consecuentemente este parámetro no contribuiría con la generación de estrés salino al momento de emplear el vermicompost como enmienda orgánica sobre la fisiología de las plantas al igual que no limitarían la productividad de los cultivos. La CE, el pH y el porcentaje de humedad indican que el vermicompost es un material conveniente para enmiendas de suelo y crecimiento de la planta, sin producir efectos tóxicos debido a baja concentración de sales.

## **b. Evaluación final porcentaje de materia orgánica (% MO) y relación C/N en los vermicompost obtenido a escala piloto**

Al asociar los porcentajes de materia orgánica con los resultados de relación C/N, se observa mayor contenido de materia orgánica en los tratamientos que presentaron alta relación C/N. Por el contrario, los tratamientos inoculados con microorganismos benéficos y *Bacillus* sp, presentaron menor relación C/N y por ende bajo porcentaje de materia orgánica, mostrando un desempeño superior al de los testigos en la biodegradación de la materia orgánica.

La explicación podría encontrarse en que los microorganismos aceleran la biodegradación del sustrato; por ejemplo, *Bacillus* sp., contribuyen produciendo enzimas extracelulares que facilitan la descomposición de polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos los cuales a su vez, los emplea como fuentes de carbono y donadores de electrones (Cariello *et al.*, 2007) similarmente los microorganismos endosimbióticos producen enzimas extracelulares que degradan la celulosa y los compuestos fenólicos, contribuyendo en la degradación del material ingerido por las lombrices (Domínguez *et al.*, 2003).

El potencial de degradación incrementa al interrelacionarse *Eisenia foetida* con los microorganismos benéficos acelerando el proceso de biotransformación de la materia orgánica (Figura, 44).

La pérdida de carbono también se produce como CO<sub>2</sub> a través de la respiración microbiana y simultáneamente por la adición del mucus que genera la lombriz y que le sirve como lubricante para deslizarse en las galerías. La lombriz en su mucus excreta cierta cantidad de materiales de desecho nitrogenados que intervienen también en la disminución de la relación C/N del sustrato. Igual potencial de reducción ha sido reportado al inocular *Streptomyces viridosporus*, *Aspergillus niger* y *Moraxella osloensis* en el proceso de vermicompostaje (Patidar *et al.*, 2013).

**Cuadro 31. Efecto de interrelación de *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos con *Eisenia foetida* sobre porcentaje de materia orgánica y relación C/N de los vermicompost obtenidos en el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto**

Tratamientos	Materia orgánica (%)		C/N	
TMZ	32,92	de	11,66	ab
MMZ	28,85	a	9,98	a
MBZ	31,87	cde	11,39	a,bc
TMT	32,04	cde	11,52	a,bc
MMT	29,18	ab	10,26	c
MBT	31,57	bcde	11,31	abc
TLZ	29,89	abc	11,35	abc
LMZ	30,58	abcd	10,73	bc
LBZ	28,94	a	10,11	a
TLT	33,11	e	12,15	a
LMT	31,85	cde	11,33	abc
LBT	30,92	abcd	10,82	bc
CV	4,67		7,13	
p- value	0,0096		0,0295	

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ )

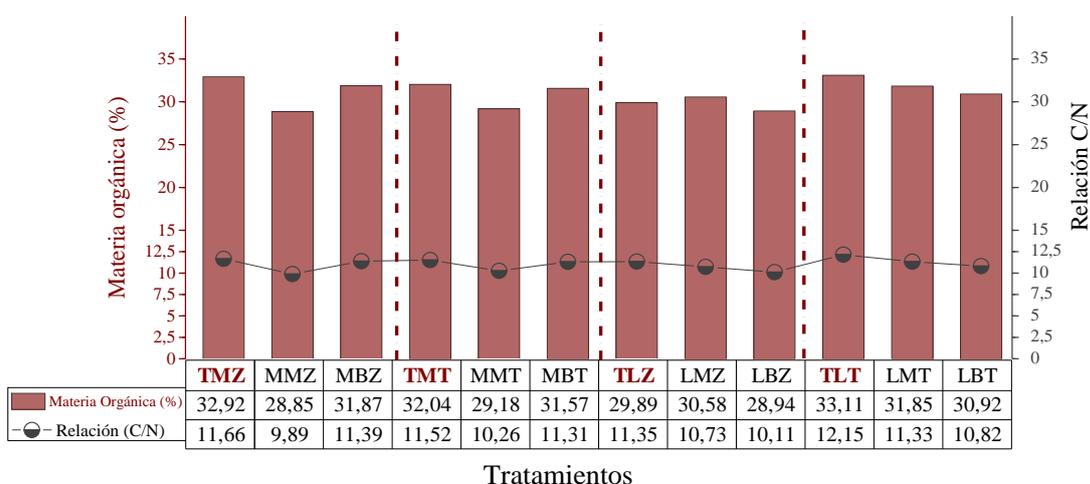
El tratamiento MMZ (compost MB más inóculo MB en Zanja) presenta el menor porcentaje de la materia orgánica 28,85 %, seguido de los tratamientos LBZ (compost Lavado más inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) 28,94 %, alcanzando a su vez menor relación C/N, evidenciando la influencia de la carga microbiana inoculada junto a la actividad digestiva de la lombriz, no obstante, al evaluar la carga microbiana presente en sus vermicompost obtenidos estos registran mayor cantidad de microorganismos.

En el tratamiento TLT (compost Testigo Lavado en Techo a dos aguas), se observa menor disminución y por ende mayor cantidad de materia orgánica por degradar. Cosa parecida sucede también con los demás tratamientos testigos que no fueron inoculados, es destacable la interrelación del consorcio de microorganismos benéficos con el cual *Eisenia foetida* presenta mayor interrelación, a diferencia con las cepas de *Bacillus* sp (Cuadro 31). Estos porcentajes encontrados cayeron dentro de la gama reportada por otros autores para los vermicompost empleando excreta de vacuno y microorganismos.

El ganado vacuno en su dieta consume 57,8 % de afrecho de trigo y 11,6 % de maíz, acorde los datos recopilados en la Unidad Experimental de Zootecnia de la UNALM. Singh y Sharma (2002), indican que estos insumos consumidos por el ganado, están conformados por 55,59 % de celulosa 23,07 % de hemicelulosa y 16,70 % de lignina,

compuestos resistentes de degradar, razón por la cual la inoculación de microorganismos benéficos y de *Bacillus* sp., contribuye acelerando ligeramente la degradación de la excreta de vacuno, algo parecido fue experimentado por estos investigadores al inocular *Pleurotus sajor – caju*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* y *Azotobacter chroococcum* registrando la aceleración del proceso y degradación de celulosa, hemicelulos y lignina obteniendo un vermicompost de mejor calidad basado su análisis químico.

Aira y Domínguez (2009) obtuvieron reducción de la materia orgánica a partir del 88,1 % de su contenido a 75,3 %  $\pm$  0,2 en estiércol de vaca y 80,7 %  $\pm$  0,1, en estiércol de cerdo. Por lo tanto, se asume que mientras mayor sea el número de lombrices presentes en el sustrato mayor va a ser el consumo de materia orgánica puesto que *Eisenia foetida* tiende a realizar una asimilación directa del carbono orgánico en su intestino, conjuntamente con la modificación de su biomasa microbiana y actividad enzimática.



**Figura 44. Variación del porcentaje de materia orgánica y relación C/N al final del proceso de vermicompostaje en las unidades experimentales en zanja y techo a dos aguas**

Al analizar estadísticamente la variable relación C/N se registran diferencias estadísticas significativas con un p-value de 0,0295 como se detallan en el Cuadro 31. La aplicación de microorganismos benéficos y *Bacillus* sp., en interrelación con la lombriz roja californiana incrementa la degradación del sustrato conforme aumenta su biotransformación obteniéndose una menor relación C/N como se observa en la Figura 44.

El tratamiento MMZ de todo los tratamientos con compost inoculado presenta la relación C/N más baja de 9,34, de los tratamientos con compost lavado el tratamiento LBZ alcanzó una relación de 10,11. Estos valores se corresponden con los hallados por Edwards *et al.* (2011) de alrededor de 10.

El cambio significativo en la relación C/N (Cuadro, 31), indican que el carbono orgánico total se reduce en forma notable y aún más en los tratamientos inoculados; ya que las lombrices aceleran la descomposición de la materia orgánica conjuntamente con los microorganismos inoculados y tal como lo señalan otros autores.

Gómez - Brandón *et al.*, (2008) indican que cuando los residuos orgánicos se degradan durante el proceso de vermicompostaje, la relación C/N va disminuyendo durante el proceso debido a las pérdidas de carbono como CO<sub>2</sub> y luego por su estabilización.

Para Edwards *et al.* (2011) el carbono orgánico tomado por las comunidades microbianas se reparte entre la producción de biomasa celular microbiana, excreción de metabolitos y respiración. La proporción de carbono retenido en un sustrato como biomasa microbiana, en relación con el carbono respirado como CO<sub>2</sub>, depende de la eficiencia del crecimiento microbiano, es decir, de la eficiencia con la que los sustratos se incorporan a su biomasa y por los productos resultantes, así como también, al grado de la protección de la biomasa microbiana en la matriz orgánica y en la tasa de descomposición de los subproductos bacterianos y fúngicos por otros microorganismos.

Consecuentemente, cuanto menor sea la eficiencia del crecimiento microbiano o menos protegida este la biomasa, mayor será la pérdida de carbono como CO<sub>2</sub>. Las pérdidas de carbono observadas durante el vermicompostaje en comparación con el compostaje podrían deberse a tres factores: a la tasa de respiración de las lombrices las cuales lo liberan en forma de CO<sub>2</sub>, a la mezcla y perforación en el sustrato por parte de las lombrices, acción a la vez que permite incrementar la accesibilidad de la materia orgánica en los organismos descomponedores y al Carbono secretado por las lombrices que induce a un efecto de oscurecimiento hacia la rápida mineralización de la materia orgánica (Sierra *et al.*, 2013) mientras que las pérdidas de nitrógeno y bajos contenidos de N-NH<sub>4</sub> en las deyecciones pueden atribuirse a las pérdidas por volatilización antes en la toma del sustrato por las lombrices especialmente en el estiércol vacuno sumándose los procesos de desnitrificación que se producen de manera anaerobia en el intestino de la lombriz que emplea el amonio y también el nitrato como fuentes para producir NO<sub>2</sub> (Kumar *et al.*, 2011).

Tripathi y Bhardwaj (2004) citando a Senapati *et al.* (1980) concuerdan que otros factores para la disminución del carbono son la producción de las mucosidades generadas por las lombrices que poseen gran cantidad de enzimas, las cuales también influye en el cambio de color en el sustrato induciendo a un efecto de oscurecimiento del sustrato, lo que a su vez indica y contribuye con la rápida mineralización de materia orgánica.

Atiyeh *et al.* (2000) describen que a medida que progresa el proceso de vermicompostaje la actividad biológica comienza a disminuir debido al agotamiento de la materia orgánica disponible y debido a que la mayor parte del nitrógeno se convierte a las formas de nitratos.

Castillo *et al.*, (2000) sostienen que un contenido bajo de nitrógeno total de un abono orgánico sugiere la presencia de materiales más resistentes de relación C/N alta, los cuales podría mineralizarse más lentamente.

Otros estudios relacionados con experimentos a nivel de laboratorio, indican la disminución gradual de la relación C/N. Por ejemplo, Atiyeh *et al.* (2000) empleando 2500 g de estiércol de vaca fresco en contenedores plásticos de (0,4 m × 0,27 m × 0,15 m) obtuvieron una disminución del 44 % de CO<sub>2</sub> en una semana después de la inoculación de las lombrices, la misma que continuó disminuyendo a lo largo de la 17 semanas con una reducción del 51 % en comparación con el 22 % en tratamientos sin lombrices, estos resultados a su vez también indican el incremento de estabilidad de la materia orgánica.

El contenido de materia orgánica en el vermicompost se relaciona directamente con el contenido total de carbono. En resumen, de acuerdo a los resultados obtenidos, se evidenció una reducción del 50 % de la relación C/N a un valor 10 en el producto final (Edwards *et al.*, 2011). Esta disminución se obtuvo luego de haber propiciado en la excreta pura de vacuno un pretratamiento (6 semanas), compostaje (8 semanas) terminando con el proceso de vermicompostaje (40 días), obteniéndose un producto en menor tiempo del convencional que refleja la satisfacción de madurez de los residuos biológicos agropecuarios (Figura 44).

Se sugiere la inoculación microbiana, debido a que esta propicia el consumo de carbono y la mineralización de los residuos orgánicos. Es necesario recalcar que la calidad del carbono del suelo limita el suministro de energía para la producción de enzimas, sirviendo, así como el principal impulsor de procesos microbianos mediados como la respiración del suelo y la mineralización de nitrógeno. Un suministro constante de una enmienda orgánica puede ayudar a restaurar o mejorar el almacenamiento de carbono en las tierras agrícolas y más aún si a este sustrato se potencia con microorganismos benéficos.

### **c. Evaluación final del contenido de elementos en los vermicompostes obtenidos a escala piloto**

La evaluación del contenido de cationes en el vermicompost se realizó con la finalidad de evaluar la influencia de la interrelación de *Eisenia foetida* con los microorganismos inoculados (microorganismo benéficos y cepas de *Bacillus* sp.,) e identificar su incremento o disminución en los sistemas de producción en zanja y techo a dos aguas.

Los vermicomposts procedentes del sistema en zanja reflejan mayor porcentaje de calcio, magnesio y sustancias húmicas y menor contenido fósforo, potasio y sodio. No obstante, las altas tasas de mineralización se producen en las deyecciones de las lombrices producto de su digestión, las cuales poseen gran cantidad de materia orgánica, mejorando enormemente la disponibilidad de nutrientes inorgánicos, particularmente amonio y nitrato, así como también, la de fósforo, potasio, calcio y magnesio para las plantas (Edwards *et al.*, 2010).

**Cuadro 32. Efecto de interrelación de *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos con *Eisenia foetida* sobre contenido de elementos en cada unidad experimental del sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto**

Tratamientos	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	Ca	Na	MgO
TMZ	0,71 bc	1,50 abc	4,00 a	0,22 b	1,69 ab
MMZ	0,74 abc	1,49 abc	4,21 a	0,19 bcd	1,78 ab
MBZ	0,71 bc	1,69 a	4,73 a	0,01 bcd	1,95 a
TMT	0,64 d	1,26 cd	4,07 a	0,19 bcd	1,5 bc
MMT	0,71 bc	1,64 ab	4,54 a	0,27 a	1,72 ab
MBT	0,71 bc	1,56 ab	4,62 a	0,20 bc	1,82 ab
TLZ	0,74 abc	1,15 abc	4,15 a	0,19 bcd	1,45 bc
LMZ	0,69 c	1,26 cd	4,11 a	0,17 cd	1,49 bc
LBZ	0,70 bc	1,49 abc	4,46 a	0,17 cd	1,73 ab
TLT	0,74 abc	1,16 d	3,77 a	0,19 bcd	1,12 c
LMT	0,72 abc	1,36 bcd	4,34 a	0,19 bcd	1,67 ab
LBT	0,77 a	1,36 bcd	4,37 a	0,17 cd	1,65 ab
CV	4,58	12,45	5,92	12,79	14,10
p- value	0,010	0,010	0,7062	0,0044	0,0318

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ).

La discusión de resultados se hará por separado. En el Cuadro 33, se observan los incrementos y reducciones de los diferentes porcentajes de cada uno de los elementos cuantificados en base a su materia seca y al peso del producto final de cada unidad experimental a escala piloto tanto en el sistema en zanja y techo a dos aguas.

### Fósforo

Los tratamientos que presentan mayor concentración de fósforo son los tratamientos LBT 0,77 %, MMZ 0,74 %, por el contrario, menor porcentaje se observa en los tratamientos LMZ 0,69 % y TMT 0,64 %, lo cual indica mayor interrelación de la *Eisenia foetida* con las cepas de *Bacillus* sp., mientras que con el consorcio se favorece esta interrelación siempre y cuando se trabaje con excreta pretratada inoculada.

En el Cuadro 33, para el fósforo en el sistema en zanja con compost inoculado, este elemento disminuye entre 60 – 66,67 %, mientras que con compost lavado su reducción es de 61,54 %, por el contrario, en el sistema techo para compost inoculado este disminuye en un 66,67 % y compost lavado 61,54 % y (ver Cuadro 33). Al analizar la pérdida total de fósforo en ambos sistemas esta corresponde aun 62,99 % al sistema en zanja y 64,10 al sistema en techo a dos aguas.

La liberación del fósforo se atribuye posiblemente a la acción que ejercen los microorganismos solubilizantes de fósforo presentes en los inoculantes, así como también a la actividad de las lombrices, al igual que su pérdida podría deberse a la lixiviación del elemento a lo largo del proceso de vermicompostaje.

Chattopadhyay (2012) entre sus porcentajes de fósforo disponible registró valoraciones de 0,004 % , en estiércol vacuno, 0,030 % en estiércol de caballo y 0,1 % en bagazo de caña de azúcar, mientras que Sinha *et al.* (2009) cuantificó 0,137 % en residuos ornamentales. Como puede observarse los porcentajes de fósforo en el estiércol de ganado vacuno son superiores a los registrados en otro tipo de sustrato a pesar de que se produce su pérdida por lixiviación.

Para Suthar y Singh (2008) el contenido de P del abono orgánico puede incrementar por acción de las fosfatasa intestinales de las lombrices, a través de algunos estudios se ha identificado que las lombrices segregan fosfatasa alcalina (fosfatasa - monosterasa) en sus deyecciones, la cual está a su vez involucrada en el ciclo P y su reducción a causa de los volúmenes aplicados para mantener un adecuado porcentaje de humedad (Aira *et al.*, 2007).

## **Potasio**

Para el porcentaje de potasio total (% KT) se registran diferencias estadísticas significativas. El tratamiento MBZ presenta mayor cantidad de % KT 1,69 %, seguido del tratamiento MMT 1,64 %, y MBT 1,56 %, mientras que los tratamientos testigos TLT y TLZ presentan menor porcentaje Cuadro 32, se observa claramente el efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus sp.*, debido a que mayores porcentajes se cuantifican de este elemento, en ambos sistemas de producción, sin embargo, la lombriz roja californiana presenta mayor preferencia por el compost inoculado que por el compost lavado.

Al partir del análisis del valor inicial del elemento potasio, los tratamientos con compost inoculado reflejan una pérdida en el sistema en zanja entre 18,75 – 31,25 %, los tratamientos a base de compost lavado su contenido se reduce entre 25 al 50 %, mientras que en el sistema techo va desde 25 – 37,5 % con compost inoculado, mientras que en el compost lavado va desde el 37,50 – 43,75 %. La reducción total entre sistema es bastante aproxima entre 39,58 en zanja y 43,75 % en techo a dos aguas (ver Cuadro

33). No obstante, se encontraron diferencias significativas (p-value 0,0104) y mayor incremento entre tratamientos inoculados en comparación con los testigos (Cuadro 32).

Para la variables % KT, algo semejante, ocurre al comparar estos resultados con los de otros estudios realizados por (Akbar Babael *et al.*, 2016; Das *et al.*, 2016; Maji *et al.*, 2017; Singh y Sharma, 2002) quienes identifican igualmente un incremento en el producto final. Tal vez la explicación de la solubilización del potasio insoluble depende de la producción de ácidos por parte de los microorganismos, a mayor carga microbiana mayor producción de ácidos se propiciaría y a su vez también obedece al aumento de la tasa de mineralización como resultante del incremento de la actividad microbiana.

El incremento de este elemento, según estudios previos podría ser probable también a la presencia de bacterias como *Acidothiobacillus ferrooxidans*, *Bacillus mucilaginosus*, *B. edaphicus*, *B. circulans*, *Paenibacillus sp.*, etc, debido a que su mecanismo de acción les brinda la capacidad de solubilizar potasio, mineralizarlo y transformarlo en formas disponibles para la planta de manera más efectiva (Etesami *et al.*, 2017).

Al comparar los contenidos porcentuales hallados en esta investigación con los de Wani *et al.* (2013), de 0,88 % PT y de Sinha *et al.* (2009), de 0,14% se evidencia que los resultados en esta experimentación empleando solo excreta de vacuno son superiores 1,69 % PT, e incluso al porcentaje identificado al vermicompostar residuos ornamentales que presenta un contenido de 0,176 % de PT, se asume que el estiércol de vacuno e inoculado con cepas de *Bacillus sp.*, conjuntamente con la interrelación de *Eisenia foetida* incrementa significativamente el contenido de este nutriente.

**Cuadro 33. Comparación de medias por la prueba LSD de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ) para los distintos porcentajes de elementos resultantes en la interrelación de Eisenia foetida con Bacillus sp., y microorganismos benéficos sobre el vermicompost en cada una de las unidades experimentales en zanja y techo a dos aguas**

Tratamientos			P2O5	K2O	Na	Calcio	Mg	Ahs	Af	Huminas	
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
COMPOST INOCULADO	TMZ	Inicial	0,15	0,16	0,03	0,27	0,09	0,31	0,12	3,34	
		Final	0,05	0,11	0,02	0,29	0,12	0,34	0,09	1,82	
		$\Delta\%$	-66,67	-31,25	-33,33	7,407	33,33	9,68	-25,00	-45,51	
	MMZ	Final	0,06	0,11	0,01	0,320	0,13	0,39	0,12	2,04	
		$\Delta\%$	-60,00	-31,25	-66,67	18,519	44,44	25,81	0,00	-38,92	
	MBZ	Final	0,05	0,13	0,02	0,360	0,15	0,32	0,12	1,68	
		$\Delta\%$	-66,67	-18,75	-33,33	33,333	66,67	3,23	0,00	-49,70	
	PROMEDIO TOTAL			-64,44	-27,08	-44,44	19,75	48,15	12,90	-8,33	-44,71
	COMPOST PRELAVADO	TLZ	Inicial	0,13	0,16	0,02	0,25	0,08	0,29	0,11	3,43
Final			0,05	0,08	0,01	0,29	0,10	0,34	0,08	2,03	
$\Delta\%$			-61,54	-50,00	-50,00	16,00	25,00	17,24	-27,27	-40,82	
LMZ		Final	0,05	0,09	0,01	0,29	0,10	0,33	0,10	1,66	
		$\Delta\%$	-61,54	-43,75	-50,00	16,00	25,00	13,79	-9,09	-51,60	
LBZ		Final	0,05	0,12	0,01	0,34	0,14	0,31	0,12	1,62	
		$\Delta\%$	-61,54	-25,00	-50,00	36,00	75,00	6,90	9,09	-52,77	
PROMEDIO			-61,54	-39,58	-50,00	22,67	41,67	12,64	-9,09	-48,40	

<b>PROMEDIO TOTAL ZANJA</b>	<b>-62,99</b>	<b>-33,33</b>	<b>-47,22</b>	<b>21,21</b>	<b>44,91</b>	<b>12,77</b>	<b>-8,71</b>	<b>-46,55</b>
-----------------------------	---------------	---------------	---------------	--------------	--------------	--------------	--------------	---------------

Tratamientos			P2O5	K2O	Na	Calcio	Mg	Ahs	Af	Huminas	
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
COMPOST INOCULADO	TMT	Inicial	0,15	0,16	0,03	0,27	0,09	0,31	0,12	3,34	
		Final	0,05	0,10	0,01	0,310	0,11	0,35	0,13	1,90	
		$\Delta\%$	-66,67	-37,50	-66,67	14,81	22,22	12,90	8,33	-43,11	
	MMT	Final	0,05	0,12	0,02	0,340	0,13	0,35	0,10	1,60	
		$\Delta\%$	-66,67	-25,00	-33,33	25,93	44,44	12,90	-16,67	-52,10	
	MBT	Final	0,05	0,12	0,01	0,340	0,13	0,34	0,09	1,58	
		$\Delta\%$	-66,67	-25,00	-66,67	25,93	44,44	9,68	-25,00	-52,69	
	PROMEDIO			-66,67	-29,17	-55,56	22,22	37,04	11,83	-11,11	-49,30
	COMPOST PRELAVADO	TLT	Inicial	0,13	0,16	0,02	0,25	0,08	0,29	0,11	3,43
Final			0,05	0,08	0,01	0,28	0,08	0,31	0,10	2,09	
$\Delta\%$			-61,54	-50,00	-50,00	12,00	0,00	6,90	-9,09	-39,07	
LMT		Final	0,05	0,09	0,01	0,29	0,11	0,33	0,10	1,71	
		$\Delta\%$	-61,54	-43,75	-50,00	16,00	37,50	13,79	-9,09	-50,15	
LBT		Final	0,05	0,10	0,01	0,32	0,12	0,34	0,12	1,80	
		$\Delta\%$	-61,54	-37,50	-50,00	28,00	50,00	17,24	9,09	-47,52	
PROMEDIO			-61,54	-43,75	-50,00	18,67	29,17	12,64	-3,03	-45,58	

<b>PROMEDIO TOTAL TECHO</b>	<b>-64,10</b>	<b>-36,46</b>	<b>-52,78</b>	<b>20,44</b>	<b>33,10</b>	<b>12,24</b>	<b>-7,07</b>	<b>-47,44</b>
-----------------------------	---------------	---------------	---------------	--------------	--------------	--------------	--------------	---------------

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ )

Wani *et al.* (2013), sostienen que la presencia de micronutrientes disponibles como el potasio (K) son requeridos para la asimilación por las lombrices durante el proceso de transformación de la materia orgánica en humus. Se debe tener presente que los porcentajes de cada elemento dependerán en base a características del sustrato y del manejo que se le brinde. Resultados inferiores para vermicompost obtenido a partir de excreta de vacuno combinada con residuos han sido reportados por otros autores. Wani *et al.* (2013), registraron un porcentaje de  $(0,60 \pm 0,02)$  al vermicompostar estiércol vacuno mezclado con desechos de jardín, mientras que al vermicompostar compost de desechos de cocina se encontró un porcentaje más elevado de  $(0,88 \pm 0,18)$ .

### **Sodio**

El contenido de sodio en el vermicompost está directamente relacionado con el contenido de sales, esta variable exhibe grandes pérdidas a lo largo del proceso de vermicompostaje. Entre los tratamientos con mayor contenido de este catión están: MMT con 0,27 %, seguido de TMZ 0,22 % y MBT 0,20 %, menor porcentaje exhiben los tratamientos en los que se empleó compost lavado cuya CE inicial fue de  $4,88 \text{ dSm}^{-1}$ , consecuencia del lavado de sales recibido en el pretratamiento y de los volúmenes de agua adicionados para mantener el porcentaje de humedad en las unidades experimentales.

En el Cuadro 32, se puede apreciar como difiere su concentración en un rango de 0,16 a 0,27 % en los tratamientos. EL porcentaje de sodio disminuye en el compost inoculado en 44,44 % en el sistema en zanja y 55,56 % en techo a dos aguas, mientras que para los tratamientos con compost lavado es mayor y similar para ambos sistemas 50 % (Cuadro 33).

De los resultados, mayor disminución del porcentaje de sodio total ( % NaT) ( $p=0,0044$ ) se cuantifica en el tratamiento MMZ describe mayor pérdida 0,19 %, mientras que en los vermicompost con compost lavado su porcentaje se redujo en un 0,16 % valor identificado en tratamiento LMZ. Conseguir la reducción de este catión es importante puesto que podría afectar el desarrollo, crecimiento y reproducción de las lombrices. Hughes *et al.*, (2009) indicó que *Eisenia foetida* es sensible a la concentración de 131,58 mmol/kg de NaCl sustentando este valor tras aplicar la prueba de toxicidad ( $LC_{50}$ ), además indica que una alta concentración de catión afecta la puesta de cocones, el peso de lombriz y ocasionado estrés en las lombrices adultas.

Pobablemente este elemento se pierde a causa del lixiviado que se propicia cuando se irriga con agua para mantener el porcentaje de humedad óptimo para el desarrollo de las lombrices, consecuentemente este queda liberado también por la dinámica de movimiento de la lombriz dentro del sustrato. Así mismo, Stark *et al.* (1978), indican que la lixiviación es un factor importante que contribuye a la reducción de la concentración de sales, dado que a las deyecciones toleran ciertos niveles de agua para su lavado y conservación de nutrientes.

## Calcio

El elemento calcio no registra diferencias estadísticas significativas tampoco se producen pérdidas de este elemento durante el proceso, tal vez una explicación a esto sea que las glándulas calcíferas de *Eisenia foetida* en su esófago producen gran cantidad Ca en forma de carbonato de calcio, el cual es segregado conjuntamente con su mucus, para lograr equilibrar su pH cuando la lombriz identifica dentro de su organismo su exceso (Cuadro, 33).

En el producto final de las concentraciones de calcio total se registró en el tratamiento MZB (compost Mob's mas inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) (4,73 %) mientras que para el precompost lavado TLT (Testigo excreta lavada nivel techo) se encontró el porcentaje más bajo (3,77 %) (Cuadro 33).

En el Cuadro, 33 presentado al inicio, se observa que el % CaT incrementó en los tratamientos con compost inoculado, alrededor de (7,40 – 33,33 %) y (14 – 25,93 %); mientras que en el compost lavado entre (16 – 36 %) y (12 - 28 %) tanto en el sistema en zanja y techo respectivamente. En los productos finales, se cuantifica la mayor cantidad de Ca en los tratamientos MMZ 4,73 %, MBT 4,62 %, LBZ 4,64% y LBT 4,37%, mientras que el menor porcentaje correspondió a TLT cuantificándose 3,77%. Estos porcentajes obtenidos se corresponden con el mayor número de lombrices registrado también, en los tratamientos que contribuyen incrementando su contenido.

Entre sistemas el porcentaje de incremento registrado fue de 21 % en zanja y 20 % en techo (Cuadro 33). Estos resultados pueden deberse al efecto de concentración del elemento y a la conductividad eléctrica. No obstante, se debe tener presente que la presencia de calcio podría promover la precipitación del elemento fósforo liberándolo (Sierra *et al.*, 2013).

## Magnesio

El magnesio disponible (% Mg) se registró tres niveles de significancia con la existencia de diferencias estadísticas significativas con un p- value 0,0318 su porcentaje varió entre un 1,12 a 1,95 % (Cuadro 32).

Las concentraciones de magnesio total incrementaron en comparación a su porcentaje inicial, esto puede ser debido a la misma actividad de las lombrices al secretar este elemento producto de su metabolismo después de incorporar los sustratos para su biodegradación y de su interrelación con los microorganismos inoculados. Su porcentaje incrementa en los vermicompost con compost inoculado entre 33,3 - 66,67 % y 22,22 - 44,4 % y entre 25 -75 % y 37,50 - 50 % en los tratamientos del sistema en zanja y techo a dos aguas respectivamente; sin embargo, mayor incremento total de magnesio se produce en los tratamientos del sistema en zanja en un 44,91 % a diferencia del de techo 33,1 % en su incremento (Cuadro 33).

En los tratamientos su porcentaje varía entre un 1,12 a 1,95 % ( Figura 32), este valor es mayor al porcentaje registrado al vermicompostar residuos ornamentales 0,016 % (Sinha *et al.*, 2009), mientras que Lim *et al.* (2015), al vermicompost racimos de frutas con estiércol vacuno en la proporción (1:3) registró un incremento del 163,60 %. El contenido total de magnesio en el vermicompost depende del tipo de residuos o de enmienda utilizada durante el proceso de vermicompostaje. Hasta ahora, la contribución directa de lombriz en el metabolismo de magnesio es todavía confusa. Se presume que los hongos y las hifas microalgas que colonizan fácilmente las deyecciones de la lombriz recién depositadas, contribuyendo al incremento de trazas de magnesio en el vermicompost final (Lim *et al.*, 2015).

En resumen, la materia prima utilizada en el proceso tiene un impacto directo sobre la concentración y el comportamiento final de los nutrientes, sin dejar de tener presente la influencia que ejerce la inoculación microbiana junto al tipo de producción de vermicompost empleado (Duran y Henriquez, 2009). De manera general, al cuantificar la presencia de nutrientes en los vermicomposts procedentes del sistema en zanja se registró mayor descenso del contenido total de fósforo, potasio, sodio y mayor incremento en el porcentaje de calcio, magnesio. Mayor porcentaje de los elementos e interrelación de la lombriz se observa en tratamientos trabajados con la excreta inoculada desde su pretratamiento con el consorcio de microorganismos benéficos y con *Bacillus*

sp durante el vermicompostaje. Cabe señalar que estos tratamientos denotaron mayor incremento poblacional de *Eisenia foetida*, el cual incide también con el incremento de nutrientes.

**d. Evaluación final del porcentaje de ácidos fúlvicos, húmicos y huminas en los vermicompost obtenidos a escala piloto**

Los compost obtenidos de los tratamientos TA (excreta prelavada y compostada) y TB (excreta inoculada y compostada) empleados en el proceso de vermicompostaje incrementaron su porcentaje de ácidos húmicos (AH), el de ácidos fúlvicos (AF), varió en los diferentes tratamientos con mayor tendencia a incrementar (ver Cuadro 34), mientras que el porcentaje de huminas (H) disminuyó en todas las unidades experimentales tanto del sistema en zanja y techo a dos aguas (Cuadro 33).

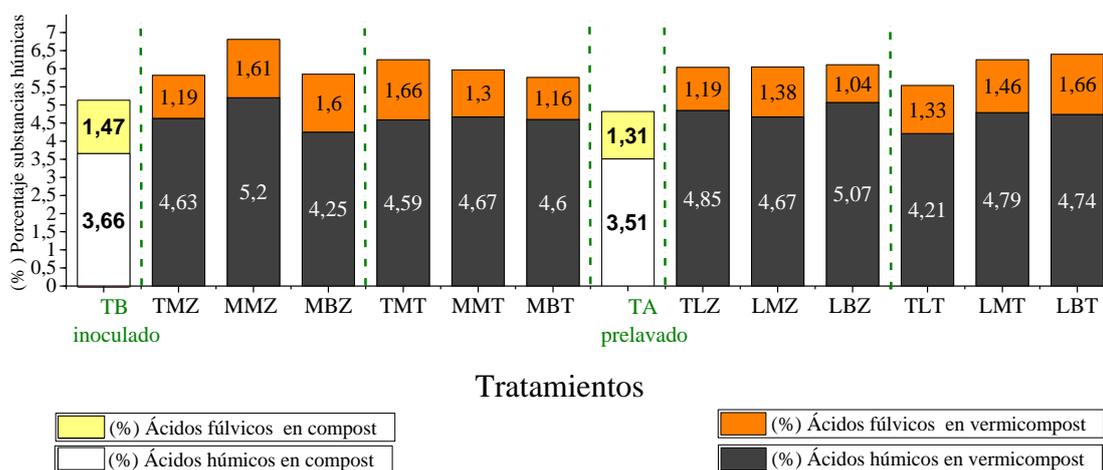
**Cuadro 34. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre los porcentajes de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas evaluados en las unidades experimentales antes y después del proceso de vermicompostaje a escala piloto**

<b>Tratamientos</b>	<b>Ácidos húmicos (%)</b>	<b>Ácidos fúlvicos (%)</b>	<b>Huminas (%)</b>
Compost Lavado	3,51	1,31	41,62
Compost Inoculado	3,66	1,47	39,75
MMZ	5,20	1,61	27,01
LBZ	5,07	1,04	26,28
TLZ	4,85	1,19	28,96
LMT	4,79	1,46	26,87
LBT	4,74	1,66	24,92
MMT	4,67	1,3	21,55
LMZ	4,67	1,38	23,81
TMZ	4,63	1,19	24,81
MBT	4,6	1,16	21,35
TMT	4,59	1,66	24,85
MBZ	4,25	1,6	22,23
TLT	4,21	1,33	28,62

El empleo de los inóculos microbianos en los tratamientos, incrementó significativamente el porcentaje de sustancias húmicas después de 40 días de vermicompostaje, sin embargo, aumentó en menor proporción en los tratamientos que no fueron inoculados.

Al analizar individualmente por tratamiento, el contenido de ácidos húmico y fúlvicos resultó ser mayor en el tratamiento MMZ (compost MB más inóculo MB en Zanja) con valores de 5,2 y 1,61 % mientras que el porcentaje de huminas fue menor con una cuantificación del 27,01 %, seguido del tratamiento LBZ (compost Lavado más inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) con porcentajes iguales a 5,07 y 1,04 % y 26,28 % respectivamente, ambos tratamientos difieren de los tratamientos que no recibieron inoculación TMZ y TLZ (ver Figura 45).

Acorde al Cuadro 33, se observa un incremento del 12,50 % para ácidos húmicos en ambos sistemas y una reducción del 8,71 % en ácidos fúlvicos en el sistema zanja (Cuadro 33).



**Figura 45. Variación de los porcentajes de ácidos húmicos, fúlvicos presentes en el compost y en el producto final vermicompost a escala piloto**

Los resultados obtenidos difieren en base a la interrelación de *Eisenia foetida* con los microorganismos presentes en los inóculos aplicados y en base al sistema de producción empleado. Vazquez (2018), obtuvo en la caracterización de vermicompost 4,76 % de ácidos húmicos, 0,87 % de ácidos fúlvicos y 28,42 % de huminas, estos resultados son inferiores, al compararlos con los resultados obtenidos en esta experimentación a partir de compost de vacuno enriquecido con microorganismos benéficos y *Bacillus* sp., en los dos tipos de sustratos empleados (ver Cuadro 34).

Campitelli *et al.* (2012), al vermicompostar estiércolo de conejo sin inoculación microbiana al término de 210 días obtuvo 4,78 % de ácidos húmicos y 3,16 % de ácidos fúlvicos, siendo estos valores similares a los registrados en los testigos, pero inferiores

comparados con inoculante microbiano sobre estiércol vacuno. Por el contrario, Albanell *et al.*, (1988) cuantificó en estiércol ovino porcentajes superiores de ácidos húmicos (12,1 %) y fúlvicos (6,7 %); a los registrados en estiércol de conejo y vaca después de 42 días de degradación.

Sinha *et al.* 2009) indican que la inoculación microbiana incrementa el contenido de ácido húmicos en vermicompost del 25 % al 68 %, dependiendo del sustrato y del tipo de inóculo. No obstante, al comparar sus inóculos empleados al experimentar con *Phanerochaete chrysosporium* registraron mayor contenido de ácidos húmicos en relación a los testigos, además, registraron que la inoculación por *Bacillus polymyxa* fue más efectiva para aumentar el contenido de ácido húmicos, independientemente de los sustratos utilizados para el vermicompostaje.

El incremento registrado puede atribuirse a una alta tasa de mineralización, la cual puede ser de hasta el 60 % y a la acumula de ácidos orgánicos resultantes del metabolismo microbiano durante la degradación de la materia orgánica en el proceso de vermicompostaje (Nasiru *et al.*, 2013). Además, esta diferencia porcentual podría deberse también a la transformación de los ácidos fúlvicos que son ácidos pequeños y solubles a ácidos húmicos; moléculas más grandes e insolubles (Fornes *et al.*, 2012).

Zandonadi y Busato (2012) indican que las sustancias húmicas actúan como bioestimulantes orgánicos interviniendo en la fisiología de las plantas, regulando su crecimiento, controlando la germinación de las semillas, el inicio de raíces, crecimiento de las plantas, absorción de nutrientes, fotosíntesis y el metabolismo energético; entre otros, contribuyendo a mejorar la estructura y fertilidad del suelo (Trevisan *et al.*, 2010).

Se asume que los vermicompost de los tratamientos MMZ, LBZ en comparación con los otros tratamientos podrían presentar mejores cualidades para fertilizar el suelo, mejorar la actividad microbiana, regular el crecimiento de las plantas, aumentar el intercambio iónico (Lazcano y Domínguez, 2011) entre otras propiedades que presentan los vermicompost diferenciándose de los obtenidos sin inoculación microbiana.

En consecuencia, independientemente del tipo de sistema de producción los resultados demostraron que las lombrices aceleraron la tasa de mineralización al interrelacionarse

con los microorganismos inoculados, convirtiendo el estiércol en un producto con alto valor nutricional y grados de humificación.

En resumen, de manera general los vermicomposts procedentes del sistema en zanja presentaron mayor descenso en salinidad, pH, relación C/N, contenido total de fósforo, potasio, sodio y mayor incremento en contenido de humedad, calcio, magnesio y sustancias húmicas. La relación C/N indicó la estabilización del vermicompost al término del proceso. El vermicompost producido en el sistema en zanja a partir de estiércol de vaca puro sin mezcla de otros materiales, es un abono orgánico rico en nutrientes, que puede añadirse al suelo para aumentar su contenido de materia orgánica y los nutrientes disponibles.

#### **4.2.3 Efecto de los sistemas tradicional en zanja y techo a dos aguas sobre las características biológicas del vermicompost enriquecido a escala piloto**

Las lombrices dentro de los lechos dividen su producto de deyección en dos zonas: una zona activa situada en las capas más jóvenes, donde se encuentran mayores densidades de lombrices y mayor incremento de las variables microbianas (biomasa y actividad microbiana); y una zona de maduración compuesta por las capas de mayor edad caracterizada por la ausencia de lombrices y la estabilización del sustrato debido a menor biomasa y actividad microbiana. En las capas jóvenes, tanto la biomasa como la actividad microbiana desarrollan valores hasta cuatro veces mayores que las capas correspondientes a vermireactores sin lombrices.

Estos resultados contradicen el hecho generalmente aceptado de que, los microorganismos forman parte de la dieta de las lombrices (Edwards y Fletcher, 1988). No obstante, se ha reportado que el incremento de los hongos estaría asociado a la mejor descomposición de la celulosa que forma parte de la estructura de algunos sustratos. Este trabajo evidencia el incremento de UFC de los diferentes microorganismos asociado a la interrelación de estos, que posiblemente se produce cuando el sustrato permanece en el tracto digestivo de la lombriz para su posterior deyección (Aira y Domínguez, 2010). El vermicompost obtenido podría contribuir en mejorar la estructura de suelos degradados por los diferentes manejos agrícolas que han modificado la biodiversidad y han alterado la estructura de las comunidades microbiológicas. A continuación, se detallan a través del análisis estadístico las cuantificaciones de las

medias de UFC de *Bacillus* sp, y de manera conjunta la de bacterias, hongos, actinomicetos, *Pseudomonas* sp y *Lactobacillus* sp registradas en los vermicompost.

**a. Unidades formadoras de colonias de *Bacillus* sp., cuantificadas en los vermicomposts producido en el sistema tradicional y techo a dos aguas a escala piloto**

La respuesta de las unidades formadoras de colonias de *Bacillus* sp., por g<sup>-1</sup> de vermicompost obtenido en los dos sistemas de experimentación, se presentan en el Cuadro 35. Al aplicar el análisis estadístico, se obtuvieron diferencias estadísticas significativas, esto significa que no hay un comportamiento estable o constante de la concentración de *Bacillus* sp., puesto que esta incrementó al término del proceso. La actividad de estos microorganismos fue menor en los tratamientos testigos que no fueron inoculados, sin embargo, también presentaron ascenso en su población.

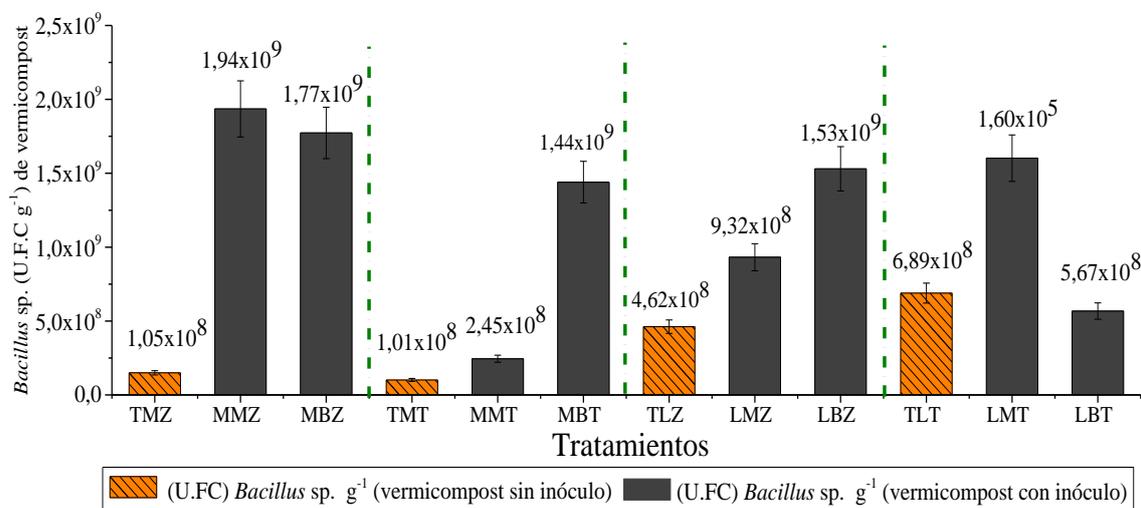
**Cuadro 35. Efecto de interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos sobre las UFC de *Bacillus* sp., cuantificadas en los vermicompost obtenidos a escala piloto**

Tratamientos	Media	Error estándar	Niveles de significancia
MMZ	1,94x10 <sup>9</sup>	1,90 x10 <sup>8</sup>	a
MBZ	1,77 x10 <sup>9</sup>	1,74 x10 <sup>8</sup>	a b
LMT	1,60 x10 <sup>9</sup>	1,57 x10 <sup>8</sup>	a b
LBZ	1,53 x10 <sup>9</sup>	1,50 x10 <sup>8</sup>	a b
MBT	1,44 x10 <sup>9</sup>	1,41 x10 <sup>8</sup>	b
LMZ	9,32 x10 <sup>8</sup>	9,14 x10 <sup>7</sup>	c
TLT	6,89 x10 <sup>8</sup>	6,76 x10 <sup>7</sup>	d
LBT	5,67 x10 <sup>8</sup>	5,56 x10 <sup>7</sup>	d e
TLZ	4,62 x10 <sup>8</sup>	4,53 x10 <sup>7</sup>	e
MMT	2,45 x10 <sup>8</sup>	2,40 x10 <sup>7</sup>	f
TMZ	1,50 x10 <sup>8</sup>	1,47 x10 <sup>7</sup>	g
TMT	1,01 x10 <sup>8</sup>	9,94 x10 <sup>6</sup>	h

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P < 0,05), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ )

De los resultados que se exhiben en la Figura, 46 se asume que una vez inoculadas las cepas de *Bacillus* sp., en las unidades experimentales, es probable que los microorganismos encuentren en el sustrato y en el sistemas de producción (zanja) condiciones propicias relacionadas principalmente con la mayor disponibilidad de nutrimentos facilitando su proliferación, a la vez el mayor número de UFC podría deberse a la estimulación metabólica propia los microorganismos presentes en el inoculante, así como también, a la carga microbiana propia del sustrato, de sus

deyecciones, del mucus secretado, el cual se ha demostrado que contiene una alta tasa microbiana y del microambiente óptimo que genera *Eisenia foetida* en su tracto intestinal incrementando la microflora en el producto final (Huang y Xia, 2018).



**Figura 46. Comparación de UFC de *Bacillus* sp., en el vermicompost obtenido a escala piloto**

El tratamiento MMZ (compost MB inóculo MB en Zanja), se distinguió sobre los demás tratamientos por su población de *Bacillus* sp., de  $1,94 \times 10^9$  de UFC g<sup>-1</sup>. Siendo el más viable para la proliferación de UFC de *Bacillus* sp., a pesar de que este tratamiento no recibió inoculación alguna de estas cepas. Seguido del tratamiento MBZ fue inoculado semanalmente durante el proceso de vermicompostaje en una concentración promedio de  $35 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, incrementando su población en un 49,42 % en el producto final vermicompost. No obstante, el tratamiento TMT (compost Testigo MB nivel Techo a dos aguas) presenta la menor cantidad de UFC g<sup>-1</sup> de *Bacillus* sp.,  $1,01 \times 10^8$  (Figura, 46).

En el sustrato inoculado se produciría una relación cercana al mutualismo fuera del intestino de la lombriz, en el sustrato una vez procesado, el cual refleja gran cantidad de UFC de *Bacillus* sp., Prakash Pandit *et al.*, (2012) observaron que las cepas asociadas con la formación de endosporas de bacilos sobreviven a condiciones climáticas extremas y se vuelven más activas cuando la humedad del suelo es favorable, en este caso se relaciona con el porcentaje de humedad que requiere el proceso de vermicompost (Prakash Pandit *et al.*, 2012).

Las especies del género *Bacillus* son promotoras del crecimiento de las plantas (PGPB) de muchos cultivos y se usan generalmente como inoculantes ejercen un efecto positivo en las plantas debido a que inducen la producción de sideróforos, fitoestimulantes y biosurfactantes, así como, compuestos con actividad inhibidora para fitopatógenos (De la Mora - Covarrubias y Valero - Galván, 2016).

Firmecitas como *Bacillus benzoovorans*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumillus*, *B. subtilis*, *B. macroides* han sido identificados en vermicompost producido a partir de mezclas de estiércol de vacuno con pulpa de fruta y desechos vegetales, los cuales registran mayor abundancia en comparación con el compost del mismo origen parental (Pathma y Sakthivel, 2012). De igual modo, en el tracto digestivo de *Eisenia foetida* se han identificado microorganismos como *B. megaterium*, *B. pumillus*, *B. subtilis* que poseen actividad antimicrobial ante *Enterococcus faecalis* DSM 2570, *Staphylococcus aureus* DSM 1104. Reviste interés su concentración, debido a que los bacillus promueven la producción de enzimas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos, permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuentes de carbono y donadores de electrones (Cariello *et al.*, 2007).

Desde el punto de vista agronómico esta predominancia de *Bacillus* observada en el tratamiento MMZ (compost MB más inóculo MB en Zanja) y LBZ (compost lavado inóculo *Bacillus* sp.), dos tipos de sustratos diferentes, es relevante puesto que un vermicompost con este tipo de microorganismos tiende a desarrollar la capacidad de almacenar una amplia gama de compuestos volátiles nematicidas como el acetaldehído de benceno, 2 - nonanone, decanal, 2 - undecanona y dimetil disulfuro, que son compuestos antagónicos contra la eclosión de huevos de *Meloidogyne* sp., como lo ha demostrado Rao *et al.* (2017), en su estudio, quienes al inocular una dilución de  $1 \times 10^8$  mL, de una solución de *B. subtilis* IIDH Bs-2 identificaron un 94,65 % de inhibición de huevos de nematodos, alcanzando su inhibición en un 100 % después de 120 horas.

**b. Unidades formadoras de colonias de microorganismos cuantificados en los vermicompost producidos en el sistema tradicional y techo a dos aguas a escala piloto**

**Cuadro 36. Efecto de interrelación de *Bacillus* sp., y microorganismos benéficos con *Eisenia foetida* UFC de bacterias, hongos, actinomicetos, *Lactobacillus* sp, *Pseudomonas* sp., el sistema en zanja y techo a dos aguas a escala piloto**

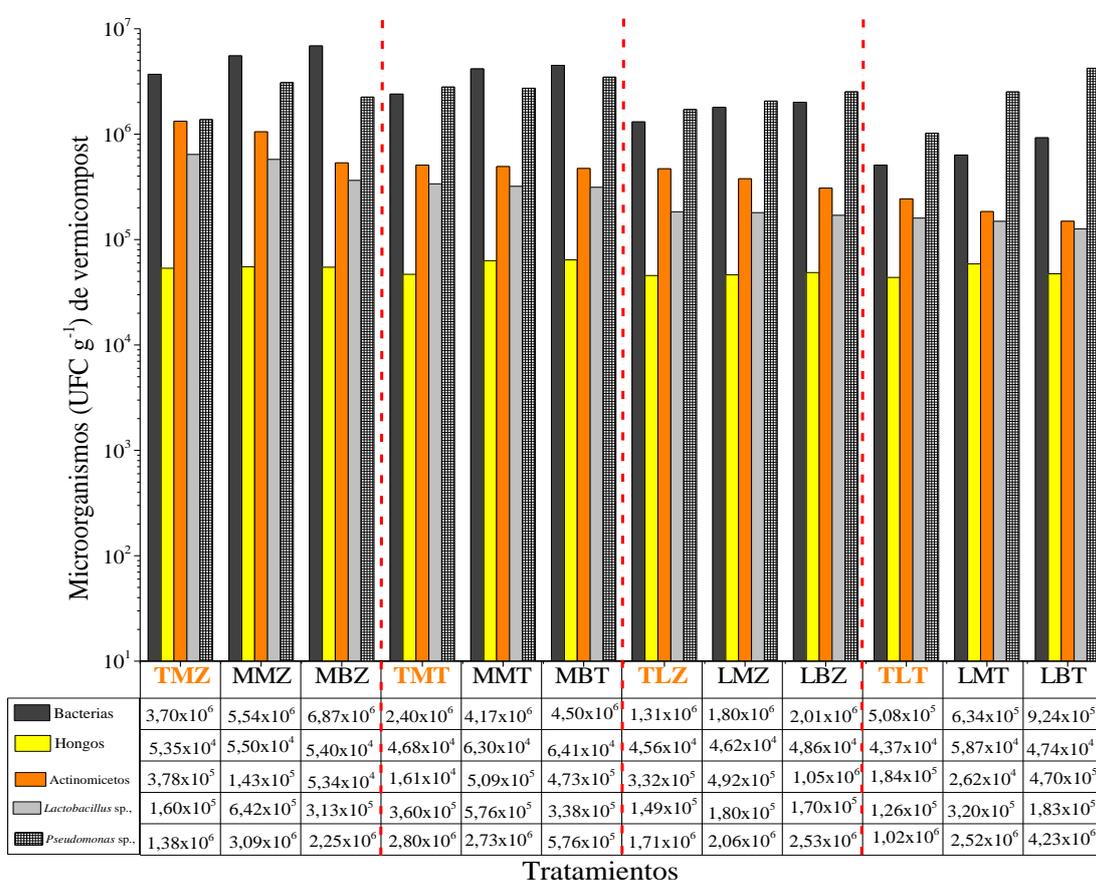
T	Bacterias	Hongos	Actinomicetos	Lactobacillus	Pseudomonas
TMZ	3,70x10 <sup>6</sup> c	5,35x10 <sup>4</sup> bc	3,78x10 <sup>5</sup> cd	1,60x10 <sup>5</sup> c	1,38x10 <sup>6</sup> h
MMZ	5,54x10 <sup>6</sup> ab	5,50x10 <sup>4</sup> b	1,43x10 <sup>5</sup> a	6,42x10 <sup>5</sup> a	3,09x10 <sup>6</sup> bc
MBZ	6,87x10 <sup>6</sup> a	5,40x10 <sup>4</sup> b	5,34x10 <sup>4</sup> b	3,13x10 <sup>5</sup> b	2,25x10 <sup>6</sup> ef
TMT	2,40x10 <sup>6</sup> d	4,68x10 <sup>4</sup> d	1,61x10 <sup>4</sup> g	3,6x10 <sup>5</sup> b	2,80x10 <sup>6</sup> cd
MMT	4,17x10 <sup>6</sup> c	6,30x10 <sup>4</sup> a	5,09x10 <sup>4</sup> bc	5,76x10 <sup>5</sup> a	2,73x10 <sup>6</sup> cde
MBT	4,50x10 <sup>6</sup> bc	6,41x10 <sup>4</sup> a	4,73x10 <sup>5</sup> bc	3,38x10 <sup>5</sup> b	3,48x10 <sup>6</sup> ab
TLZ	1,31x10 <sup>6</sup> f	4,56x10 <sup>4</sup> d	3,32x10 <sup>4</sup> de	1,49x10 <sup>5</sup> cd	1,71x10 <sup>6</sup> g
LMZ	1,80x10 <sup>6</sup> e	4,62x10 <sup>4</sup> d	4,93x10 <sup>5</sup> bc	1,80x10 <sup>5</sup> c	2,06x10 <sup>6</sup> fg
LBZ	2,01x10 <sup>6</sup> de	4,86x10 <sup>4</sup> cd	1,05x10 <sup>6</sup> a	1,70x10 <sup>5</sup> c	2,53x10 <sup>6</sup> de
TLT	5,08x10 <sup>5</sup> h	4,37x10 <sup>4</sup> d	1,84x10 <sup>5</sup> fg	1,26x10 <sup>5</sup> d	1,02x10 <sup>6</sup> i
LMT	6,34x10 <sup>5</sup> h	5,87x10 <sup>4</sup> ab	2,62x10 <sup>4</sup> ef	3,20x10 <sup>5</sup> b	2,52x10 <sup>6</sup> de
LBT	9,24x10 <sup>5</sup> g	4,74x10 <sup>4</sup> d	4,70x10 <sup>5</sup> bc	1,83x10 <sup>5</sup> c	4,23x10 <sup>6</sup> a
Desviación /n<3	36,10	36,22	36,21	36,11	36,18
CV	17,09	7,91	26,05	15,98	15,12
P-value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Los valores son promedio de tres repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba de comparación con LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ )

La abundancia microbial de los vermicomposts viene dada, principalmente, por el mismo proceso de elaboración, en donde los sustratos pasan a través del tracto digestivo de la lombriz, el cual posee una flora microbial que alcanza unos 500 mil millones de microorganismos. Entre los grupos filogenéticos de bacterias hallados en el tracto digestivo de *Eisenia foetida* se encuentran las proteobacterias, los bacteroidetes, las verrucomicrobias, las actinobacterias y los firmicutes (Yasir *et al.*, 2009).

Las medias de las poblaciones de bacterias muestran diferencias significativas entre los vermicompost obtenidos de cada unidad experimental, de acuerdo a la prueba de LSD de Fisher, este efecto puede deberse a la mayor interrelación de *Eisenia foetida* con *Bacillus* sp., lo cual se corrobora con la mayor población de bacterias de 6,87 X10<sup>6</sup>

UFC registrada en el tratamiento MBZ (compost MB inóculo *Bacillus* sp., en zanja), seguida del tratamiento MBT (compost MB inóculo *Bacillus* sp., a nivel techo a dos aguas con  $4,50 \times 10^6$  UFC, sobre el mismo tipo de compost pero en diferentes sistemas de producción, sin embargo en los tratamientos inoculados con el consorcio de microorganismos benéficos se observa menor UFC, siendo esta inferior en el tratamiento TLT (Testigo compost Lavado nivel Techo a dos aguas) que no recibió inóculo microbiano. Sin embargo, al inocular el vermicompost las poblaciones de bacterias demuestran su capacidad para establecerse en el sustrato, motivo por se cuantifican mayores incrementos de estos microorganismos en el producto final.



**Figura 47. Comparación de UFC de bacterias, hongos, actinomicetos, *Lactobacillus* sp., y *Pseudomonas* sp., en el vermicompost obtenido a escala piloto**

Nandi *et al.* (2012), al vermicompostar residuos vegetales de mostaza y malezas de granja mezclados con estiércol de vacuno empleando 500 lombrices *Eisenia foetida* e inoculando microorganismos lignocelulolíticos (*Trichoderma viride*, *Cellulomonase fimi* y *Bacillus* sp.), *Azotobacter Chroococcum*, *B. megaterium*, en sistema en zanja cuantificaron  $67,43 \times 10^8$  UFC de bacterias  $g^{-1}$  de vermicompost, este valor es superior al registrado en esta experimentación  $6,87 \times 10^6$  UFC de bacterias  $g^{-1}$  de vermicompost,

teniendo en consideración su determinación se realizó en excreta de vacuno sin mezcla de otros materiales y diferente tipo de inoculantes.

Duran y Henriquez (2009), al inocular 600 lombrices *Eisenia foetida* en estiércol de vacuno a nivel de laboratorio empleando cajones de madera, de 0,50 m de largo, 0,30 m de ancho y 0,30 m de alto, con volumen de 0,045 m<sup>3</sup> de estiércol cuantificaron en el vermicompost resultante 1,8 x 10<sup>7</sup> UFC de bacterias g<sup>-1</sup>, esta valoración difiere de la encontrada en este estudio, sin embargo, se debe tener presente que esta diferencia puede deberse a que en condiciones de laboratorio las condiciones son mas controladas que a escala piloto.

Zamora *et al.* (2017), reiteran que las bacterias constituyen el grupo más numeroso de microorganismos, presentes en concentraciones mayores a Log 8,3 UFC mL<sup>-1</sup> en los vermicompost. Particularmente, su presencia se debe a la alta capacidad competitiva para degradar los sustratos, en un estudio realizado por estos autores al inocular té de vermicompost sobre hojas de café registraron su incremento sobre su superficie, después de 24 horas. Los investigadores manifiestan que este aumento puede ser debido a la adición de los microorganismos presentes en el té del vermicompost y a de los nutrientes que sirven de sustrato a los microorganismos inoculados.

Para Aira *et al.* (2015), los cambios en la abundancia de bacterias dependen del *phylum* y del tipo de estiércol, al experimentar en estiércol vacuno estos investigadores encontraron gran cantidad de protobacterias, las cuales incrementaron en el tracto intestinal de la lombriz de 43 a 54 %. El grupo más predominantes de estas bacterias fue el de las gammaproteobacterias, con una predominancia del 21 %. De la misma manera identificaron en las deyecciones de las lombrices que esta abundancia de proteobacterias puede cambiar según el tipo de estiércol. Al alimentar a *Eisenia foetida* con dieta basada en estiércol de cerdo registraron su reducción del 60 % antes de la digestión y después a 32 %, mientras que al emplear estiércol vacuno registraron antes de la digestión 24 % y su incremento llegó al 82 % tanto en su interacción intestinal y deyección.

Las medias de poblaciones de hongos presentan diferencias significativas, el tratamiento que presenta la mayor población de este tipo de microorganismos es el tratamiento MBT (compost MB inóculo *Bacillus* sp., nivel Techo a dos aguas), este se distingue estadísticamente de los demás con una media de 6,41 X 10<sup>4</sup> UFC g<sup>-1</sup>, seguido del

tratamiento MMT (compost MB más inóculo MB nivel Techo a dos aguas) con una media de  $6,30 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup>, al contrario, menor población se registra en los tratamientos con compost lavado y testigo.

Tal como lo señalan diversos autores las lombrices digieren algunas levaduras, protozoos y ciertos grupos de hongos como *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y microhongos motivo por el cual la población presente de hongos podría disminuir (Pathma y Sakthivel, 2012), Los resultados revelan mayor población de hongos en los tratamientos nivel de techo en los cuales la población de lombrices coincide ser menor, por lo tanto a menor población de lombrices mayor presencia de hongos. Por el contrario, Pramanik (2010), indican que a pesar que las lombrices consumen hongos con sustratos orgánicos para cumplir con su requisito de proteína y nitrógeno, la población fúngica en sus deyecciones y en alguno sustratos es casi igual o mayor a la de los sustratos iniciales.

El incremento de los hongos puede deberse a otros factores como son las condiciones ambientales, las características físico químicas, la edad del sustrato debido que a medida que se vuelve más maduro va perdiendo calidad en cuanto al aporte de nutrimentos, lo que podría causar su inhibición. Holguin Castaño y Mora Delgado (2009), manifiestan que adicionalmente a diferencia del compostaje, el vermicompostaje no alcanza la etapa termófila, en la cual se produce la muerte de una gran cantidad de población microbiana y a su vez ocurre una selección de la misma al interrelacionarse los microorganismos en el tracto digestivo de *Eisenia foetida*, razón por la cual mayor incremento de las poblaciones microbianas se registró en comparación a las cuantificadas realizadas en el sustrato inicial de compost de vacuno (Domínguez *et al.*, 2003).

Cabe señalar que la riqueza microbial que posee un vermicompost influye sobre otros sustratos, en relación a su actividad supresora de algunas enfermedades de suelo, relacionando esta cualidad directamente con una mayor población de microorganismos benéficos. Entre algunos de los hongos antagonistas que se han comportado exitosamente bajo condiciones de laboratorio y escala piloto, se puede citar al hongo *Trichoderma* sp., que al ser estudiado en detalle ha demostrado resultados promisorios en el control de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii.*, al igual que en la supresividad de los suelos contra patógenos de las plantas ha sido asociada con la presencia de este hongo (Durán y Henríquez, 2007).

Respecto a la población de actinomicetos esto son de importancia agrícola puesto que otorgan al vermicompost importantes propiedades; entre las cuales resalta su capacidad de biocontrol, en base a la producción de enzimas biodegradativas, como: quitinasas, glucanasas, peroxidases (Escobar *et al.*, 2012). Edwards *et al.* (2010) indican que los actinomicetos son capaces de aumentar hasta 1000 veces en el contenido del material ingerido por las lombrices al pasar por su intestino, consecuentemente los incrementos registrados en los tratamientos inoculados pueden ser la resultante de la interacción de *Eisenia foetida* con los microorganismos inoculados.

La prueba de LSD de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ), muestra diferencias significativas para la población de actinomicetos. El tratamiento MMZ (compost MB inóculo MB en Zanja) presenta la media más alta con  $1,33 \times 10^6$  UFCg<sup>-1</sup> seguido de LBZ (compost Lavado inóculo MB en Zanja) con una media de  $1,05 \times 10^6$  UFCg<sup>-1</sup> a diferencia del tratamiento TMT (Testigo compost MB nivel Techo) con  $1,49 \times 10^5$  UFC g<sup>-1</sup> de vermicompost.

La UFC de actinomicetos en compost inoculado incrementaron a partir de  $1,30 \times 10^5$  g<sup>-1</sup>, similarmente, en el compost lavado su población aumentó a  $1,40 \times 10^5$  UFC g<sup>-1</sup> en (ver Cuadro 21), a las concentraciones registradas en el Cuadro 36, durante el proceso de vermicompostaje, marcadas diferencias en el número de UFC, en los tratamientos del sistema en zanja tanto con compost inoculado como lavado, a diferencia con los tratamientos del sistema techo a dos aguas se registran valores altos. El tratamiento MMZ exhibió una población de  $1,33 \times 10^6$  la cual incrementó en un 90 %. De todos los tratamientos con compost lavado, LBZ registra mayor cantidad con  $1,05 \times 10^6$  UFC de actinomicetos g<sup>-1</sup>, con un incremento del 87 % en el producto final.

A nivel de laboratorio Duran y Henriquez (2009) empleando estiércol de vacuno sin inóculo cuantificaron  $2,2 \times 10^6$  UFC de actinomicetos, una valoración distante a la identificada en este estudio en los tratamientos con y sin inóculo. Sin embargo, en a escala piloto el sistema en zanja y techo a dos aguas, los tratamientos MMZ y MMT trabajados con el mismo sustrato inoculado, muestran valores superiores a los tratamientos en los que se empleó excreta lavada, lo cual indica mayor palatabilidad de *Eisenia foetida* por el compost inoculado que por el lavado, independiente del sistema de producción, otro factor que influye posiblemente son las condiciones abióticas en el desarrollo de actinomicetos.

Nandi *et al.* (2012) al emplear inoculando microorganismos lignocelulolíticos (*Trichoderma viride*, *Cellulomonas fimi* y *Bacillus* sp.), *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium*, en compost de residuos vegetales mezclados con estiércol vacuno cuantificaron  $11,41 \times 10^5$  UFC de actinomicetos  $g^{-1}$  de vermicompost, también este valor resulta ser inferior al registrado en esta experimentación con inoculación microbiana de microorganismos benéficos.

De los diversos géneros de actinomicetos, se ha puesto atención al género *Streptomyces*, puesto que estos microorganismos tienden a colonizar la rizosfera, ejerciendo biocontrol, sobre hongos fitopatógenos, además promueven la nodulación y contribuyen con los bacteriodes de *Rhizobium* sp, a la asimilación del hierro, así como también, intervienen en la fijación de nitrógeno en las leguminosas, lo cual contribuye, indirectamente.

Huang *et al.* (2013), igualmente detectaron en el *phylum* de actinomicetos los géneros bacterianos, *Streptomyces* sumando también la presencia de *Rhodococcus*. Además, Pathma y Sakthivel (2012), indican similarmente que entre las Actinobacterias, que se han identificado dentro del intestino de la lombriz están *Cellulosimicrobium cellulans*, *Microbacterium* sp., y *M. oxydans*.

Con respecto a las UFC de *Lactobacillus* sp., por  $g^{-1}$  de vermicompost, se observan diferencias significativas, el tratamiento MMZ (compost MB más inóculo MB en Zanja) presenta la media más alta con  $6,42 \times 10^5$  UFC $g^{-1}$  seguido del tratamiento MMT  $5,76 \times 10^5$  UFC $g^{-1}$  de por el contrario menor población se registra en los tratamientos que no recibieron inoculación (Ver Cuadro, 36). Como se observa las colonias de UFC muestran marcada presencia en los tratamientos que fueron inoculados con microorganismos benéficos que aquellos en los que se inoculó *Bacillus* sp, Sin embargo, gracias a la interrelación que se produce en el tracto digestivo de *Eisenia foetida* su número puede incrementar como lo han citado diversos autores, sumándose a ello la concentración de bacterias lácticas presentes en el consorcio ( $24 \times 10^4$ ). Las bacterias ácidos lácticas de igual manera al estar presente en el vermicompost realzan sus propiedades, puesto que estas bacterias producen ácido láctico a partir de azúcares que son sintetizados por las bacterias fotosintéticas y levaduras, influyendo en la supresión de microorganismos nocivos como el *Fusarium* sp., (Juodeikiene *et al.*, 2018).

La respuesta de las unidades formadoras de colonias de *Pseudomonas* sp., por gramo de vermicompost obtenido escala piloto bajo el sistema techo a dos aguas como en el sistema tradicional presenta diferencias significativas junto a mayores niveles de significancia. En el tratamiento LBT (compost lavado mas inóculo *Bacillus* sp., a nivel de Techo) registró la media más alta con  $4,23 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$ , conjuntamente con el tratamiento MBT (compost MB inoculó *Bacillus* sp., nivel Techo) con una media de  $3,48 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$ , la menor población se registro en el tratamiento TLT (compost Testigo Lavado nivel Techo) una media de  $1,02 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$ . No obstante, su desarrollo fue más marcado en el sistema techo a dos aguas, especialmente en los tratamientos en los que se inoculó cepas de *Bacillus* sp.

En base a los hallazgos anteriores se asume que probablemente en los vermicompost hay microorganismos procedentes del consorcio o propios del sustrato que a su vez no permiten su proliferación en mayor número produciéndose la disminución de su concentración como se observó en algunos tratamientos TLT ( $1,02 \times 10^6$ ), TMZ ( $1,38 \times 10^6$ ) UFC de *Pseudomonas*  $g^{-1}$ . Pathma y Sakthivel (2012) sostienen que las lombrices ingieren gran cantidad bacterias rizosféricas promotoras de crecimiento de plantas entre ellas *Pseudomonas* sp., *Rhizobium*, *Bacillus* sp., *Azospirillum*, *Azotobacter*, etc. junto con el suelo rizosférico, y a su vez estos microorganismos pueden activarse o aumentar debido al microambiente ideal del intestino de la lombriz.

La presencia de estos microorganismos puede relacionarse también a la influencia de los factores abióticos en los ambos sistemas de producción (ver Cuadro 36). Las pseudomonas poseen capacidad enzimática para degradar diversos componentes de la pared celular de ciertos hongos (Cariello *et al.*, 2007), además estos microorganismos son potenciales degradadores y su presencia en el intestino de la lombriz ha sido registrada tanto como en sus deyecciones y en el vermicompost (Singleton *et al.*, 2003).

En resume al comparar las de medias poblacionales usando LSD de Fisher ( $\alpha=0,05$ ) evidencia el incremento potencial de UFC de los microorganismos en estudio, como resultante de la interacción de *Eisenia foetida* con microorganismo beneficos y *Bacillus* sp. a comparación con los tratamientos testigos, sin embargo, mayor interrelación se produce con las cepas de *Bacillus* sp, inoculadas. En el transcurso de los últimos años se ha explorado un sin número de microorganismo por su alto potencial para degradar residuos orgánicos, son necesarios más estudios que refuercen esta investigación con

respecto al potencial del microorganismo y su capacidad de interacción con *Eisenia foetida*.

### 4.3 Fase experimental III: evaluación del vermicompost en invernadero y laboratorio

#### 4.3.1 Efecto del vermicompost sobre el crecimiento y desarrollo de *Raphanus sativus* L. en invernadero

Para evaluar la incidencia del vermicompost obtenido en los tratamientos tanto en el sistema en zanja como en el sistema techo a dos aguas con inoculación de microorganismos benéficos y *Bacillus* sp., se empleó el modelo biológico *Raphanus sativus* L.; se evaluó a los 15, 30 y 45 días después de la plantación, la altura de las plantas. A los 45 días de la cosecha, se midió el diámetro polar y ecuatorial del hipocotílo, registrando el peso de la biomasa fresca (hojas conjuntamente con tallos) de los cinco rabanitos sembrados por maceta. Finalmente se cuantificó el peso de la biomasa seca y fresca de los hipocólitos cosechados.

Con respecto al coeficiente de variación (CV) registrado a los: 15 días 10,20 %, 30 días 14,23 % y 45 días 14,99 %, se puede interpretar como normal por ser un estudio experimental, se encuentra dentro del rango de aceptación (Cuadro 37).

#### a. Altura de las plantas a los 15, 30 y 45 días de siembra

**Cuadro 37. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para altura de plantas a los 15 días, 30 y 45 días después de siembra del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

F.V	Altura de plantas		
	15 días	30 días	45 días
Compost	0,0081**	0,3399 NS	0,2935 NS
Inóculo	0,0023**	<,0001**	0,0085**
Sistema de vermicompostaje	0,9771NS	0,0004**	0,0018**
Compost*Inóculo	0,1489NS	0,0388*	0,1169NS
Compost*Sistema	0,6879NS	0,1266NS	0,3122NS
Inóculo*Sistema	0,7165NS	0,0894NS	0,4112NS
Compost*Inóculo*Sistema	0,5411NS	0,0875NS	0,3447NS
Promedio	4,47	12,76	21,33
CV	10,20 %	14,23 %	14,99 %

FV= Fuente de variación. Composts (Mob's y lavado); Inóculo (microorganismos benéficos, *Bacillus* sp.); Sistema de vermicompostaje (zanja y sistema techos a dos aguas); NS= No significativo; \*\*Altamente significativo; CV= Coeficiente de variación

El análisis de varianza a los 15 días para altura de planta para los tres factores de estudio (ANEXO 12, 13 y 14) reporta diferencias altamente significativas tanto para el tipo de compost empleado (compost prelavado) con un p-value 0,0081, como para el tipo de inóculo (*Bacillus* sp.) con un p-value 0,023 no se registraron diferencias significativas entre el uso del sistema de producción empleado (zanja o techo), esto es probable debido a que la germinación fue favorecida por la menor CE de los vermicompost trabajados con compost lavado, sin embargo se observó el crecimiento de las semillas de rabanito sin dificultad alguna en cada unidad experimental.

Con respecto a la interacción entre factores de estudio no se observan diferencias significativas, puesto que los microorganismos requieren de un tiempo para colonizar las raíces, adaptarse a las nuevas condiciones y producir un efecto visible sobre las características fenotípicas de las plantas (Alvarado *et al.*, 2015).

A su vez, el desarrollo y crecimiento microbiano radica en un complejo número de diferentes reacciones equilibradas que determinan su metabolismo. Las catabólicas o anabólicas están sujetas a las distintas variables ambientales que influyen en las condiciones y velocidades de crecimiento celular (Castañeda y Sánchez, 2016) (Cuadro, 37).

Las comparaciones de las medias promedio de altura de las plantas de rabanito registran significancias significativas. Las plantas del tratamiento LBZ (compost Lavado más inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) presentan mayor altura con una longitud de 5,02 cm, por el contrario, menor altura se registró en el tratamiento TMZ (compost Testigo en Zanja) con 3,62 cm, no obstante, longitudes ligeramente más altas de 5,7 cm al inocular *Bacillus pumillus* y 6,8 cm con *Bacillus licheniformis* fueron observadas por Sotelo *et al.* (2012) .

A los 30 días en el segundo registro de altura de las plantas se observan diferencias altamente significativas (ANEXO, 13) tanto para el tipo de inóculo empleado durante el vermicompostaje (*Bacillus* sp.) con un p-value de 0,001, así como también, para el sistema de producción (zanja) con un p-value de 0,004. Las interacciones altamente significativas a los 30 días, para el tipo de compost (prelavado) e inóculo (*Bacillus* sp.) con un p-value de 0,0388, se demuestra con la obtención de medias de cuadrado mínimos, a continuación en el Cuadro 38, se detalla el valor obtenido.

**Cuadro 38. Medias de cuadrados mínimos para el efecto de interacción tipo de compost \*inóculo a los 30 días después de siembra del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

Compost Lavado	<i>Bacillus</i> sp.,	16,133	1
Compost Lavado	MB	12,323	2
Compost Lavado	Sin inóculo	10,280	3
Compost MB	<i>Bacillus</i> sp.,	13,233	4
Compost MB	MB	13,670	5
Compost MB	Sin inóculo	10,516	6

En el segundo registro de altura de las plantas, las tendencias en cuanto al crecimiento se mantuvieron en longitudes más altas en los vermicompost procedentes del sistema en zanja. Se obtuvieron niveles de significancia estadística. El tratamiento LBZ (compost Lavado inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) registró 18,90 cm seguido de MMZ (compost MB inóculo MB en Zanja) con 15,98 cm, mientras en el tratamiento TLT (compost Testigo Lavado en sistema techo a dos aguas) desarrolló un crecimiento de 9,67 cm.

La principal deducción de la respuesta altura de planta es debida, a que el *Bacillus* sp., a los treinta días ya coloniza su nuevo ambiente (rizósfera), por lo cual su metabolismo aumenta junto con la síntesis de productos intermediarios, incrementando la producción de proteínas bacterianas, enzimas y a la vez su capacidad productora de fitohormonas, como la giberelina, que estimula el crecimiento de las plantas (Castañeda y Sánchez, 2016), estas longitudes obtenidas en este estudio son ligeramente más altas a las observadas por Sotelo *et al.*, (2012) de 8,9 cm al emplear *B. pumillus* y 8,0 cm con *B. licheniformis*.

A los 45 días (ANEXO, 14), entre los factores de estudio se registraron diferencias altamente significativas para el tipo de microorganismos benéficos y el sistema de producción en zanja, sin embargo, no se registró interacciones significativas para los factores en estudio.

Acorde a los resultados ANOVA ( $\alpha= 0,05$ ) se obtuvieron cuatro rangos de significancia, con un ligero incremento de la altura de plantas comparada con la de los tratamientos testigos. Las plantas del tratamiento MMZ (compost MB inóculo MB en Zanja) presentaron mayor altura con 29,34 cm; en tanto que las plantas del tratamiento TLT (compost Testigo Lavado nivel Techo a dos aguas) evidenciaron la menor altura con una media de 16,77 cm (Cuadro, 39).

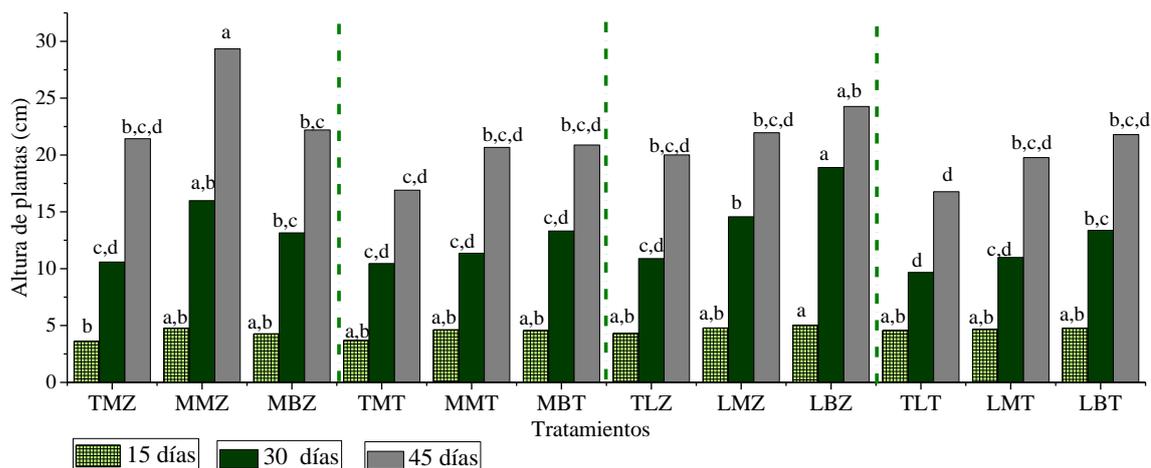
**Cuadro 39. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para altura de plantas a los 15 días, 30 y 45 días después de siembra del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

T	Compost	Inóculo	Sistema	Promedio de evaluación			Diferencia Promedios entre 30 y 45 días
				15 días	30 días	45 días	
TMZ	MB	Sin Inóculo	Zanja	3,62 b	10,59 cd	21,43 bcd	10,85
MMZ	MB	MB	Zanja	4,77 ab	15,98 ab	29,34 a	13,36
MBZ	MB	<i>Bacillus</i> sp.,	Zanja	4,27 ab	13,15 bc	22,20 bc	9,05
TMT	MB	Sin Inóculo	Techo	3,69 ab	10,45 cd	16,91 cd	6,47
MMT	MB	MB	Techo	4,62 ab	11,36 cd	20,67 bcd	9,31
MBT	MB	<i>Bacillus</i> sp.,	Techo	4,56 ab	13,32 bc	20,88 bcd	7,56
TLZ	Lavado	Sin Inóculo	Zanja	4,31 ab	10,89 cd	20,01 bcd	9,11
LMZ	Lavado	MB	Zanja	4,79 ab	14,57 b	21,96 bcd	7,40
LBZ	Lavado	<i>Bacillus</i> sp.,	Zanja	5,02 a	18,90 a	24,27 ab	5,37
TLT	Lavado	Sin Inóculo	Techo	4,57 ab	9,67 d	16,77 d	7,10
LMT	Lavado	MB	Techo	4,67 ab	10,99 cd	19,77 bcd	8,78
LBT	Lavado	<i>Bacillus</i> sp.,	Techo	4,77 ab	13,37 bc	21,79 bcd	8,43
Promedio				4,47	12,77	21,33	

Los valores son promedio de cinco repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ).

Al final de la experimentación, los vermicompostes trabajados con compost inoculado, tratamiento MMZ, demuestran un desempeño superior al testigo, exhiben una altura promedio de 29,34 cm, mientras que, los tratamientos con compost lavado LBZ presenta un crecimiento de 24,27 cm con una diferencia en crecimiento de 5,07 cm. Esto se explicaría debido a que mayor carga microbiana *Bacillus* sp. registrada en el tratamiento MMZ de  $1,53 \times 10^9$  UFC, con respecto a la de LBZ de  $1,90 \times 10^8$  UFC, influye en el crecimiento de las plantas.

Kumar *et al.* (2018) en su estudio comparativo al emplear, vermicompost y productos químicos fertilizantes registraron alturas de: 50 cm en vermicompost, 41 cm en estiércol de vaca, 39 cm con urea y 17 cm en el tratamiento control. Al comparar con la data obtenida en este estudio, la altura que se registró fue menor (29,34 cm) empleando el vermicompost a partir de estiércol de vacuno a comparación con los valores reportados por Kumar *et al.* (2018) para altura de plantas de rabanito pero a partir de otro tipo de sustrato.



**Figura 48. Comparación de medias con sus respectivos niveles de significancia usando la prueba de ANOVA para altura de plantas a los 15 días, 30 y 45 días después de siembra del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

Para Atiyeh *et al.* (2000) las posibles diferencias en el crecimiento de las plantas entre los tratamientos empleando vermicompost, no están simplemente en función de las diferencias en su contenido nutricional, puesto a que es probable que existan otros insumos. Arancon *et al.* (2008), indican que entre los posibles insumos se encuentran el aumento de la actividad enzimática, incremento de microorganismos benéficos o de sustancias biológicamente activas, ácidos húmicos con hormonas de crecimiento adsorbidas que influyen en la germinación de la semilla, crecimiento de las plántulas y su desarrollo posterior.

Las respuestas de crecimiento podrían deberse también a la diferencia de la cantidad de nitrógeno presente en cada vermicompost, el cual se libera en la forma de nitrato, la forma disponible para la absorción de la planta (Atiyeh *et al.*, 2000) y a su vez podría ser esencial para la síntesis de proteínas estructurales (Edwards y Fletcher, 1988). Consecuentemente este elemento favorecería en el crecimiento de las plantas.

Hay grandes diferencias entre los efectos de los vermicomposts, en términos de su influencia en el crecimiento tanto de las plántulas como de sus hipocótilos al emplear inoculación microbiana. Estos experimentos, conjuntamente con otros reportados en la literatura demuestran que los vermicomposts tienen un considerable potencial para mejorar significativamente el crecimiento de las plantas cuando se utilizan como componentes de suelo.

Según los resultados obtenidos, los tratamientos inoculados presentan un crecimiento superior al tratamiento testigo. Como se puede apreciar en la Figura 48, en base a los niveles de significancia, la diferencia de altura entre las plantas de rabanitos empezó a observarse después de los 15 primeros días de siembra, con mayor diferenciación a los 30 y 45 días. Las plantas que crecieron en vermicompost inoculado destacan por ser las mejores en su desarrollo, mientras que el desarrollo de las plantas que crecieron en vermicompost no inoculado fue menor y por ende se registraron menores longitudes en su desarrollo.

#### b. Diámetro polar y ecuatorial de hipocótilos

**Cuadro 40. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para diámetros de hipocótilos después de la cosecha del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

	Diámetro ecuatorial	Diámetro Polar
F.V	Ecuatorial	Polar
Compost	0,6820NS	0,6958NS
Inóculo	0,0039**	<,0001**
Sistema de vermicompostaje	0,0005**	0,0002**
Compost*Inóculo	0,0075**	0,0097**
Compost*Sistema	0,2998NS	0,0784NS
Inóculo*Sistema	0,6222NS	0,0706NS
Compost*Inóculo*Sistema	0,0251NS	0,2496NS
Promedio	4,17	5,09
CV	8,67 %	14 %

FV= Fuente de variación. Composts (Mob's y lavado); Inóculo (microorganismos benéficos, *Bacillus* sp.); Sistema de vermicompostaje (zanja y sistema techos a dos aguas); NS= No significativo; \*\*Altamente significativo; CV= Coeficiente de variación.

A los 45 días de la cosecha de los cinco hipocótilos, con el objetivo de identificar su tamaño, se midió su ensanchamiento (diámetro ecuatorial) y crecimiento longitudinal (diámetro polar). En el Cuadro 40, se puede apreciar que el análisis de varianza (ANEXO 15,16) para los tres factores de estudio, mientras que en el Cuadro 41, se detallan las interacciones halladas. Finalmente, se muestran las evaluaciones promedio de cada rabanito en el Cuadro 42.

En su diámetro ecuatorial se encontraron diferencias altamente significativas tanto para el tipo de inóculo *Bacillus* sp., con un p-value de 0,0039, así como también, para los hipocótilos cosechados en el vermicompost bajo producción en sistema zanja con un p-value de 0,005. Se registraron interacciones significativas entre el compost (prelavado) y el tipo de inóculo *Bacillus* sp., con un p-value de 0,0075. Una explicación con

respecto al engrosamiento del hipocótilo, podría deberse a la influencia del *Bacillus* sp., algo parecido ocurre en la papa a pesar de que son especies diferentes, se han encontrado que estas bacterias son las principales habitantes de su rizosfera que estimulan el crecimiento del hipocótilo (Alvarado *et al.*, 2015).

Para el diámetro polar, se encontraron diferencias altamente significativas tanto para el tipo de inóculo (microorganismos benéficos) y compost (inoculado con MB) con un p-value de 0,001, así como también, para el vermicompost proveniente del sistema de producción (zanja) con un p-value de 0,0002.

Se presentaron interacciones altamente significativas entre el compost (inoculado con microorganismos benéficos) y el tipo de inóculo (microorganismos benéficos) con un p-value de 0,0097 en el crecimiento longitudinal del rabanito. Se asume que la inoculación con microorganismos benéficos promueve mayor crecimiento longitudinal que ecuatorial.

Las interacciones altamente significativas para el diámetro ecuatorial y polar se demuestran con la obtención de medias de cuadrado mínimos, a continuación, en el Cuadro 41, se detallan los valores obtenidos.

**Cuadro 41. Medias de cuadrados mínimos para el efecto de interacción tipo de compost \*inóculo en el diámetro ecuatorial y polar después de siembra del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

Tipo de compost	Tipo de inóculo	Ecuatorial	Polar
Compost Lavado	<i>Bacillus</i> sp.,	4,7	5,9
Compost Lavado	MB	4	5,5
Compost Lavado	Sin inóculo	3,8	3,7
Compost MB	<i>Bacillus</i> sp.,	4,08	5,01
Compost MB	MB	4,4	6,57
Compost MB	Sin inóculo	3,9	3,78

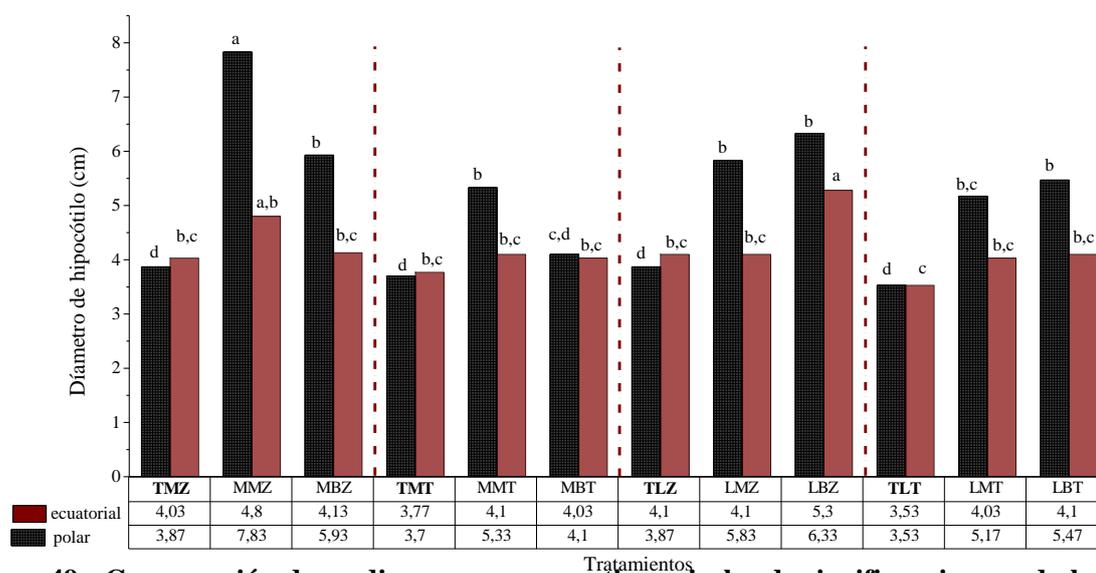
A continuación, en el Cuadro 42, se detallan las dimensiones promedio registradas para los hipocótilos de cada uno de los tratamientos.

**Cuadro 42. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para diámetros de hipocótilos a los 45 días de cosecha del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

T	Compost	Inóculo	Sistema	Diámetros		Diferencia
				Ecuatorial	Polar	Promedios entre diámetros
TMZ	MB	Sin Inóculo	Zanja	4,03 bc	3,87 d	0,17
MMZ	MB	MB	Zanja	4,80 ab	7,83 a	3,03
MBZ	MB	<i>Bacillus</i> sp.,	Zanja	4,13 bc	5,93 b	1,8
TMT	MB	Sin Inóculo	Techo	3,77 bc	3,70 d	0,07
MMT	MB	MB	Techo	4,10 bc	5,33 b	1,23
MBT	MB	<i>Bacillus</i> sp.,	Techo	4,03 bc	4,10 cd	0,07
TLZ	Lavado	Sin Inóculo	Zanja	4,10 bc	3,87 d	0,23
LMZ	Lavado	MB	Zanja	4,10 bc	5,83 b	1,73
LBZ	Lavado	<i>Bacillus</i> sp.,	Zanja	5,30 a	6,33 b	1,03
TLT	Lavado	Sin Inóculo	Techo	3,53 c	3,53 d	0,00
LMT	Lavado	MB	Techo	4,03 bc	5,17 bc	1,13
LBT	Lavado	<i>Bacillus</i> sp.,	Techo	4,10 bc	5,47 b	1,37
Promedio				4,17	14	

Los valores son promedio de cinco repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba ANOVA ( $\alpha = 0,05$ )

Como se observa en Cuadro 42, el mayor diámetro ecuatorial se identificó en el tratamiento LBZ (compost Lavado con inóculo *Bacillus* sp., en Zanja) con una media de crecimiento de 5,30 cm en tanto para el tratamiento TLT (compost Testigo Lavado en Techo a dos aguas), obtuvo una media 3,53 cm. No obstante, el diámetro polar de los rabanitos procedentes del tratamiento MMZ (compost MB más inóculo MB en Zanja) presentó una media de 7,83 cm, mientras que la menor longitud de 3,52 cm correspondió a TLT (compost Testigo Lavado en Techo a dos aguas).



**Figura 49. Comparación de medias con sus respectivos niveles de significancia usando la prueba de ANOVA para diámetros de hipocótilos a los 45 días de cosecha del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

En los vermicompost producidos bajo el sistema en zanja presentan mejores indicadores del desarrollo de los hipocótilos cosechados. El tratamiento MMZ se registró un diámetro ecuatorial de 5,28 cm y un diámetro polar 7,85 cm, mientras que Gómez-Álvarez *et al.* (2008) en su estudio al emplear vermicompost en la siembra de *Raphanus sativus* L, registraron menor diámetro ecuatorial 3,2 cm y similar diámetro polar 7,9 cm. No obstante, Lazcano y Domínguez (2011), sostienen que hay una gran variación en los efectos de vermicompost dependiendo de la especie de planta e inclusive de su variedad considerada.

Los rendimientos obtenidos en las dimensiones de los rabanitos y sus incrementos en los diferentes tratamientos se pueden explicar por la mayor disponibilidad de nutrientes presentes en los vermicompost enriquecidos, así como también, a la carga microbiana identificada, mayor cantidad de sustancias húmicas registradas especialmente en el tratamiento MMZ. Chaoui *et al.* (2003) indicaron que el vermicompost a diferencias de los fertilizantes inorgánicos constituye una fuente de nutrientes de liberación lenta, puesto que los nutrientes se van poniendo lentamente a disposición de la planta a medida que ésta los va necesitando a lo largo de su desarrollo. En la Figura 49, se aprecian la variabilidad de los indicadores de crecimiento de los hipocótilos de rabanito (diámetro ecuatorial y polar), al igual que se presentan los niveles de significancia de cada uno de los hipocótilos del rabanito en su tratamiento.

### **c. Producción de biomasa**

El análisis de varianza para las variables: peso de biomasa fresca (hojas y tallos), peso fresco y seco de hipocótilos se presenta en el Cuadro 43 y ANEXOS, 17,18 y 19.

A los 45 días de la cosecha, para la variable peso fresco de tallos y hojas de *Raphanus sativus* L., se registraron diferencias altamente significativas para el tipo de inóculo empleado (*Bacillus sp*) p-value de 0,0041 y sistema de vermicompostaje (zanja) p-value de 0,0176. Sin embargo, no se encontraron interacciones entre los tres factores de estudio (compost, inóculo y sistema) (Cuadro 44).

**Cuadro 43. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, para peso de biomasa del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

F.V	Pesos biomasa		
	Hojas y tallos	Hipocótilo fresco	Hipocótilo seco
Compost	0,6946NS	0,0057**	0,2256NS
Inóculo	0,0041**	<0,0001**	<0,0001**
Sistema de vermicompostaje	0,0176*	<0,0001**	0,0033**
Compost*Inóculo	0,0610NS	0,1727NS	<0,0001**
Compost*Sistema	0,9530NS	0,2103NS	0,2302NS
Inóculo*Sistema	0,6682NS	0,0025**	0,1677NS
Compost*Inóculo*Sistema	0,2594NS	<b>0,0343*</b>	0,0503NS
Promedio	143,30	52,87	10,13
CV	9,72 %	12 %	13,77 %

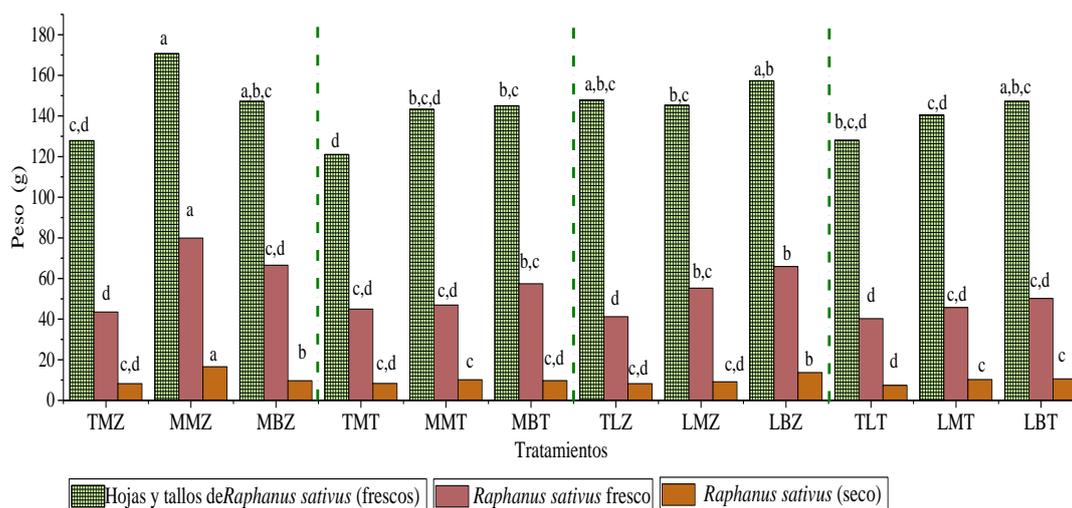
FV= Fuente de variación. Composts (Mob's y lavado); Inóculo (microorganismos benéficos, *Bacillus* sp.); Sistema de vermicompostaje (zanja y sistema techos a dos aguas); NS= No significativo; \*\*Altamente significativo; CV= Coeficiente de variación.

En relación al peso fresco del hipocotílo cosechado se encontraron diferencias altamente significativas para los tres factores: tipo de compost (MB) p-value de 0,0057, tipo de inóculo (*Bacillus* sp.) y sistema de producción (zanja) ambos con un p-value de < 0,0001. Así mismo, se encontraron interacciones altamente significativas entre inóculo MB y sistema en zanja con un p-value de 0,0025, e interacciones significativas entre los tres factores de estudio compost (MB), inóculo (MB) y sistema (zanja) correspondiente al tratamiento MMZ con un p-value de 0,0343, esta interacción se demuestran a continuación con la obtención de medias de cuadrado mínimos, en el Cuadro 44.

**Cuadro 44. Medias de cuadrados mínimos para el efecto de interacción tipo de compost, inóculo y sistema bajo el cual se obtuvo el vermicompost para peso de hipocotílo de rabanito fresco (*Raphanus sativus* L.)**

T	Tipo de compost	Tipo de inóculo	Sistema de vermicompostaje	Medias
TMZ	Lavado	<i>Bacillus</i> sp.,	Techo a dos aguas	50,133
MMZ	Lavado	<i>Bacillus</i> sp.,	Zanja	64,426
MBZ	Lavado	MB	Techo a dos aguas	45,660
TMT	Lavado	MB	Zanja	55,226
MMT	Lavado	Sin inóculo	Techo a dos aguas	40,243
MBT	Lavado	Sin inóculo	Zanja	41,203
TLZ	MB	<i>Bacillus</i> sp.,	Techo a dos aguas	55,950
LMZ	MB	<i>Bacillus</i> sp.,	Zanja	66,490
LBZ	MB	MB	Techo a dos aguas	46,890
TLT	MB	MB	Zanja	79,846
LMT	MB	Sin inóculo	Techo a dos aguas	44,883
LBT	MB	Sin inóculo	Zanja	43,483

Al evaluar el peso de la biomasa seca del hipocotílo la misma tendencia fue observada, Consecuentemente, se encontraron interacciones altamente significativas entre tipo de compost (compost inoculado con MB) y tipo de inóculo empleado (MB) con un p-value de  $< 0,0001$ . Al igual para los tres factores de estudio compost (MB), inóculo (MB) y sistema (zanja) correspondiente al tratamiento MMZ con un p-value de  $0,0003$ .



**Figura 50. Comparación de medias con sus respectivos niveles de significancia usando la prueba de ANOVA para peso de biomasa fresca de tallos y hojas, peso fresco y seco de *Raphanus Sativus* L**

En la Figura 50, se aprecian de manera general la variabilidad de la biomasa fresca del *Raphanus sativus* L (tallos y hojas), así como también, el peso del hipocotílo fresco y seco en (g). Mayor peso se registró en los tratamientos con vermicompost que recibieron inoculación microbiana a comparación de los tratamientos que no fueron inoculados.

La variabilidad de biomasa fresca y seca por el rabanito (*Raphanus Sativus* L.), se aprecia en la Figura 50, los tratamientos inoculados produjeron mayor biomasa que los testigos.

El tratamiento MMZ (compost MB inóculo MB en Zanja) presentó mayor peso fresco de biomasa (hojas y tallos) registrando una media de 170,64 g, seguido del tratamiento LBZ con una media de 157,28 g dentro del nivel de significancia A. Mientras que el tratamiento TMT (compost Testigo inóculo MB en Techo a dos aguas) registró el peso más bajo (120,98) g. La biomasa juega un papel importante en el análisis de las tasas de crecimiento del cultivo ya que de esta depende el análisis del comportamiento del

crecimiento de la planta y su estado fenológico. La variabilidad de la producción de mayor biomasa puede ser debida al desenvolvimiento que ejercen los microorganismos promotores del crecimiento de plantas, los cuales estimulan el crecimiento de las plantas.

**Cuadro 45. Significancia estadística de las fuentes de variación del ANOVA, biomasa fresca (hojas y tallos), hipocófitos secos y frescos del rabanito (*Raphanus sativus* L.)**

T	Compost	Inóculo	Sistema	Biomasa					
				tallos y hojas		hipocófito fresco		hipocófito seco	
TMZ	MB	Sin Inóculo	Zanja	127,83	cd	43,80	d	8,20	cd
MMZ	MB	MB	Zanja	170,64	a	79,85	a	16,55	a
MBZ	MB	<i>Bacillus</i> sp.	Zanja	147,16	abc	66,51	b	9,66	cd
TMT	MB	Sin Inóculo	Techo	120,98	d	44,91	cd	8,32	cd
MMT	MB	MB	Techo	143,26	bcd	46,89	cd	10,29	c
MBT	MB	<i>Bacillus</i> sp.	Techo	145,02	bc	55,95	bc	9,52	cd
TLZ	Lavado	Sin Inóculo	Zanja	147,80	abc	41,20	d	8,20	cd
LMZ	Lavado	MB	Zanja	145,26	bc	55,23	bc	9,12	cd
LBZ	Lavado	<i>Bacillus</i> sp.	Zanja	157,28	ab	64,43	b	13,63	b
TLT	Lavado	Sin Inóculo	Techo	127,99	bcd	40,25	d	7,36	d
LMT	Lavado	MB	Techo	140,45	cd	45,66	cd	10,21	c
LBT	Lavado	<i>Bacillus</i> sp.	Techo	147,19	abc	50,13	cd	10,54	c

Los valores son promedio de cinco repeticiones. Medias de tratamientos dentro de una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), de acuerdo a la prueba ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ).

Otro factor que influyó en la producción de biomasa puede ser la provisión de nutrientes por el vermicompost de estiércol vacuno que mejora la fotosíntesis, el almacenamiento de energía y la división celular (Uddain *et al.*, 2014). La aplicación de vermicompost aporta N y P y otros elementos esenciales para la planta, sino también mejora la capacidad de retención de agua y de nutrientes, lo cual provoca un efecto positivo al estimular el crecimiento de las plantas (Duran y Henriquez, 2010). La inoculación de microorganismos benéficos ganó a la de *Bacillus* sp, en el crecimiento de diámetro polar y ecuatorial del rabanito, así como también en su peso. Flores *et al.* (2009), indican que en el proceso de crecimiento del fruto influyen, el balance hormonal, el fotoperíodo, la radiación, la concentración de CO<sub>2</sub>, la nutrición mineral, la temperatura y el genotipo.

El tratamiento MMZ registró el mayor peso de hipocófito fresco con 79,85 g, seguido de tratamiento LBZ, ambos difieren en el tipo de compost empleado en el proceso de vermicompostaje y a su vez en el tipo de inoculante. El tratamiento MMZ (compostMB más inóculo MB en Zanja) presentaron mayor peso de hipocófito seco con 16,55 g, en

tanto que los rabanitos del tratamiento sin inoculación evidenciaron los pesos secos más bajos como se observa en el Cuadro 42.

Srinivasan y Mathivanan (2011) empleando consorcios líquidos constituidos por mezclas de *Bacillus* sp., *B. licheniformis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptomyces fradiae*; demostraron el incremento en los parámetros productivos en el girasol (tamaño de la flor, peso de la flor, número de semillas, peso de las semillas). Debido a que los microorganismos poseen propiedades que les permite actuar como promotores del crecimiento de las plantas.

Otra ventaja que se debe tener en cuenta y que ha sido reportada es el uso exitoso de *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., y *Streptomyces* sp., para el control de varias enfermedades en muchos cultivos (Chung *et al.*, 2005). A su vez hipotetizan que las hormonas de crecimiento en las plantas pueden ser adsorbidas por las fracciones húmicas, siendo la respuesta del crecimiento de la planta, una combinación hormonal / húmica, Sumándose a esto también la segregación de fitohormonas como son las giberelinas y citocininas que contribuyen en el crecimiento tanto de la planta como de los hipocótilos (Kumar y Gupta, 2018).

Según esta tendencia podríamos establecer el tratamiento MMZ es más adecuado desde el punto de vista agronómico para el cultivo, considerando los resultados generales obtenidos en peso, diámetro del hipocótilo (polar y ecuatorial) y la producción de biomasa.

#### **4.3.2 Evaluación de acción supresiva del vermicompost en laboratorio**

La acción supresora que ejercen los microorganismos autóctonos del vermicompost sobre la superficie cortada de la manzana fue positiva, puesto que a pesar que se colocó el vermicompost sobre el tejido de la manzana no se evidenció putrefacción ni desarrollo de *Penicillium* sp., al término de los 15 días de experimentación.

El vermicompost previno la acción de hongos de manera significativa en todas las manzanas e incluso en las más maduras, que por su estado de madurez mayor permeabilidad. No se observó la colonización de *Penicillium expansum*, que es un microorganismo ubicuo del suelo y de coloración azul característica, a pesar de que este hongo tiende desarrollarse más rápido cuando las manzanas se encuentran en un

ambiente cálido, alcanzando un óptimo desarrollo en vitro a los 20 °C (Morales *et al.*, 2010).

En el vermicompost testigo sin inoculación se observó un Nivel supresivo bajo, mientras que en el nivel medio fueron cualificados la mayoría de tratamientos, TMZ, TMT, MMT, LMT, TLZ y LMZ, por el contrario, un nivel alto de supresión se cualificó en los tratamientos tanto MMZ, MBZ, MBT, LBT, LBZ, en los cuales el factor común en supresión fue el inóculo *Bacillus* sp, independientemente del sistema de producción. Estos tratamientos mostraron un alto nivel de supresión, ante la presencia de hongos puesto que no se observó la formación de esporas de estos microorganismos, así como tampoco se evidencio la putrefacción de la fruta en la zona del corte quedando más propensa a la acción microbiana de los microorganismos patógenos (Cuadro, 45).

**Cuadro 46. Determinación cualitativa del nivel de supresión que presentan los vermicompost**

Tratamientos	Nivel de supresión			
	Alto	Medio	Bajo	Ninguno
TMZ (Testigo compost MB nivel Zanja)		X		
MMZ (compost MB + inóculo MB nivel Zanja)	X			
MBZ (compost MB + inóculo <i>Bacillus</i> sp., nivel Zanja)	X			
TMT (Testigo compostMB + inóculo MB nivel Techo a dos aguas)		X		
MMT (compost MB + inóculo MB nivel Techo a dos aguas)		X		
MBT (compost MB + inóculo MB nivel Techo a dos aguas)	X			
TLT (Testigo compost Lavado nivel Techo a dos aguas)			X	
LMT (compost Lavado + inóculo MB nivel Techo a dos aguas)		X		
LBT (compost Lavado + inóculo <i>Bacillus</i> sp., nivel Techo a dos aguas)	X			
TLZ (Testigo compost Lavado nivel Zanja)		X		
LMZ (compost Lavado + inóculo MB nivel Zanja)		X		
LBZ (compost Lavado + inóculo <i>Bacillus</i> sp., nivel Zanja)	X			

Por lo cual, la inhibición del crecimiento de hongos, pudo deberse a la acción antagonica mediada por antibiosis, característica de microorganismos del vermicompost como biocontroladores. Castañeda y Sánchez, (2016) demostraron su biocontrol empleando a nivel de laboratorio *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. pumilus* y *B. cereus*, registrando que *B. subtilis* mostró mayor capacidad antagonica con un 79,73 %, así como también se observó su alta velocidad de crecimiento.

Se observó la aparición de microorganismo como son los actinomicetos por su coloración blanquecina, permaneciendo intacta la superficie de la manzana. El nivel de supresión medio a comparación del bajo puede ser atribuido a que la lombriz en su intestino posee un gran cantidad de microorganismos que proliferan cuando esta digiere el sustrato con carga microbiana (Aira *et al.*, 2007); mientras que un sustrato lavado por ende tiene menor carga microbiana la cual resultaría moderadamente imperceptible y por ende permitiendo el desarrollo de hongos patógenos

Según Bautista-Baños (2006) para el control biológico de enfermedades postcosecha, la selección de microorganismos benéficos está basada en la habilidad para colonizar rápidamente la superficie de la fruta y las heridas persistiendo en ellas, en la capacidad para superar al patógeno en la adquisición de nutrientes para su sobrevivencia ante una amplia gama de condiciones ambientales. De igual manera, otros modos de acción antagonista resultan ser la producción de antibióticos, parasitismo directo y posible inducción a la resistencia para la supresión de la actividad de patógenos (Sharma *et al.*, 2009).

Los resultados encontrados por Zhang *et al.* (2009) muestran alto poder antagonico de *Rhodotorula glutinis* en las concentraciones de  $5 \times 10^8$  UFC ml, para disminuir la incidencia y reducción del diámetro de lesión ocasionado por *Penicillium expansum*. Así como también, Saravanakumar *et al.* (2008) señalan que la competencia por nutrientes han demostrado una acción microbial antagonista de *Metschnikowia pulcherrima* jugando un rol importante para la supresión de patógenos como *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* mediante la depleción de hierro e inhibición del crecimiento de patógenos en la postcosecha de manzanas.

Haciendo alusión a la producción de antibióticos, Bautista (2006) indica que *Bacillus subtilis* B-3 produce iturina la cual inhibe el crecimiento y la germinación del hongo *Monilinia fruticola*. a su vez Mari *et al.* (2012) Describe que las cepas L1 y L8 de *Auseobasidium pullulans* en la concentración de  $10^8$  UFC ml emitieron el mejor control biológico contra *B. cinerea*, *Colletotrichum acutatum* y *P. expansum*, de hecho, el efecto antimicótico observado en el crecimiento del micelio del patógeno podría atribuirse a la producción de los compuestos orgánicos volátiles (VOC) generados por los microorganismos antagonistas reduciendo la incidencia del hongo en un 38 y 50 %.

### 4.3.3 Evaluación de antagonismo de microorganismos benéficos presentes en el vermicompost ante *Fusarium* sp. en laboratorio

El género *Fusarium* sp., emplea diversas estrategias de infección, así también, la especificidad del hospedero depende de cada especie de *Fusarium* sp., (García y Amaro, 2014) este hongo forma estructuras infectivas como los apresorios y secretan una mezcla de enzimas hidrolíticas para penetrar el complejo de barreras físicas del huésped (quitinasas, celulasas, pectinasas y proteasas) (Villa *et al.*, 2014).

La prueba cualitativa de antagonismo contra *Fusarium* sp., se realizó empleando el té de vermicompost de los doce tratamientos, de acuerdo a una evaluación cualitativa de desarrollo del patógeno, el nivel de antagonismo se obtuvieron los siguientes resultados (Cuadro 47).

**Cuadro 47. Determinación cualitativa del nivel de antagonismo que presentan los vermicompost**

Tratamientos	Nivel de supresión			
	Alto	Medio	Bajo	Ninguno
TMZ (Testigo compost MB nivel Zanja)		X		
MMZ (compost MB + inóculo MB nivel Zanja)		X		
MBZ (compost MB + inóculo <i>Bacillus</i> sp., nivel Zanja)	X			
TMT (Testigo compost MB + inóculo MB nivel Techo a dos aguas)		X		
MMT (compost MB + inóculo MB nivel Techo a dos aguas)		X		
MBT (compost MB + inóculo MB nivel Techo a dos aguas)		X		
TLT (Testigo compost Lavado nivel Techo a dos aguas)				X
LMT (compost Lavado + inóculo MB nivel Techo a dos aguas)			X	
LBT (compost Lavado + inóculo <i>Bacillus</i> sp., nivel Techo a dos aguas)			X	
TLZ (Testigo compost Lavado en Zanja)		X		
LMZ (compost Lavado + inóculo MB en Zanja)		X		
LBZ (compost Lavado + inóculo <i>Bacillus</i> sp., en Zanja)		X		

El té del vermicompost del tratamiento testigo obtenido a partir de compost lavado sin inóculo TLT fue el único tratamiento que no desarrolló antagonismo, de igual forma, el té de los vermicompost trabajados con el mismo compost, pero inoculados con microorganismos benéficos LMT y *Bacillus* sp., LBT obtenidos en el mismo sistema desarrollaron un nivel bajo de antagonismo. Los tratamientos TMZ, MMZ, TMT,

MMT, MBT, LMZ, LBZ desarrollaron un nivel medio, el tratamiento MBZ fue el único tratamiento con un nivel alto de antagonismos contra *Fusarium* sp. Como se puede observar el nivel de antagonismo fue independiente del sistema de producción de vermicompost. Particularmente esta propiedad fue más notoria en el té de los vermicompost obtenidos de compost inoculado (Cuadro, 47).

Los resultados revelan que las comunidades microbianas que habitan el vermicomposts ejercen una acción directa sobre el patógeno, entre los mecanismos empleados podría citarse la antibiosis que se entiende como una inhibición o destrucción de un microorganismo por un producto metabólico de otro, competencia entre ellos que suele ser por nutrientes (carbono, nitrógeno, factores de crecimiento, oxígeno, etc) y espacio; y también fenómenos de parasitismo o depredación (Gómez, 2017).

Lo más destacable del ensayo radica en que el tratamiento inoculado con *Bacillus* sp producido en sistema en zanja, fue el que presentó mayor antagonismo puesto que el género *Bacillus* sp. y aquellos relacionados con este, son las especies más dominante después de la fase termofílica de compostaje y vermicompostaje en al excreta de vacuno (Sasaki *et al.*, 2009). Las cepas del orden bacillares se encuentran presentes en lixiviados de vermicompost y destaca por su capacidad de antibiosis. Las especies *Bacillus* spp. producen muchas clases de antibióticos como bacilomicina, fungimicina, micosubtilina y zwittermicina, que son efectivos en suprimir el crecimiento de patógenos in vitro y/o in situ (Carreras, 2011).

Se ha documentado que las cepas *Bacillus* sp., presentan elevada capacidad de inhibición sobre los hongos de los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Phytophthora*. Acorde los hallazgos de Romero *et al.* (2014) las cepa *Bacillus subtilis* EPCO-16 reducen las enfermedades en las plantas. Al igual, Morales-Barrón *et al.* (2017), encontraron que *Bacillus licheniformis* y *Bacillus badius*, al ser aislados de lixiviados de vermicompost demostraron elevados porcentajes de inhibición contra hongos en un 40 % , mientras que el *Bacillus subtilis* inhibió únicamente el 20 % contra *Fusarium oxysporum* a las 72 horas. Por otro lado, se registró que el *Bacillus circulans* presentó los valores más bajos de inhibición de crecimiento del patógeno.

Romero-Tepal *et al.* (2014) empleando la pirosecuenciación del gene del rRNA 16S en muestras de lixiviado de vermicompost de estiércol vacuno, obtenidas después de 0, 14

y 28 días de almacenamiento identificaron que la composición de la comunidad bacteriana estaba integrada por microorganismos como: Proteobacterias 51,5 %, Actinobacterias 15,5 %, Tenericutes 11,4 %, Bacteroidetes 4,9 %, Chloroflexi 1,9%, Firmicutes 1,8 % y Planctomycetes 1,2 %.

Dentro del *phylum* Proteobacterias identificaron cinco clases: *Alfaproteo-bacterias* 32,2 %, *Betaproteobacterias* 9,1 %, *Gammaproteobacteria* 8,9 %, *Deltaproteobacteria* y *Epsilonproteobacteria* 0,2 %. Los autores recalcan que se debe tener presente que las comunidades bacterianas podrían cambiar rápidamente durante el tiempo de almacenaje del lixiviado de vermicompost y mantenerse por más tiempo dentro del vermicompost.

El efecto inhibitor de *Bacillus thuringiensis* en hongos fitopatógenos se puede asociar a la producción de enzimas que pueden actuar contra la pared celular. Esto es debido a que algunas bacterias antagónicas de hongos fitopatógenos producen quitinasas, enzimas que tienen un papel importante en la degradación de quitina, por lo que es crucial en la hidrólisis de la pared celular de hongos (Carreras, 2011).

## V. CONCLUSIONES

En la presente investigación de los resultados obtenidos se establecieron las siguientes conclusiones:

- La aplicación del consorcio de microorganismos benéficos mejoró la calidad fisicoquímica y biológica del compost, reduciendo el volumen de agua.
- El inóculo encontró en la excreta, las condiciones propicias, en relación con la disponibilidad de nutrimentos de fácil asimilación, adaptándose al medio y recolonizando el sustrato en su capacidad ecológica.
- Se cuantificó similar cantidad de UFC de bacterias y hongos. Sin embargo, en la población de actinomicetos fue mayor en el tratamiento que recibió inoculación.
- Mayor interrelación se obtuvo entre *Eisenia foetida* y el consorcio de microorganismos benéficos inoculado en sistema de zanja durante el proceso de vermicompostaje tanto a nivel de laboratorio y escala piloto a comparación con *Bacillus* sp.
- Aumentó el número de lombrices en cada uno de los estamentos poblaciones (lombrices juveniles, subadultas, adultas y cocones).
- La aplicación de microorganismo benéficos y el empleo del sistema zanja mejoró la calidad del vermicompost, sin embargo, se determinó una reducción significativa del contenido de fósforo y potasio.
- La carga microbiana inoculada aceleró el proceso de degradación en 40 días, mayor efecto se produjo al emplear el consorcio de microorganismos benéficos que al usar individualmente las cepas *Bacillus* sp., tendiendo a formar un vermicompost de mayor calidad de materia orgánica humidificada.
- Se alcanzó una óptima relación C/N de 10 en el vermicompost.

- Se demostró que la propuesta de pretratamiento, compostaje y vermicompostaje es viable y rentable al emplear el consorcio de microorganismo benéficos, la propuesta tiene el potencial de evitar largos periodos de compostaje y acelerar el vermicompostaje en 40 días como nueva propuesta de gestión ambiental de residuos orgánicos agroindustriales
- El vermicompost incrementó el desarrollo y crecimiento del rabanito.
- Promovió el efecto antagonista sobre el *Fusarium* sp., y supresivo de hongos vinculado con los tratamientos que describen mayor población microbiana
- La adición de inóculo de microorganismos benéficos y *Bacillus* sp., incrementó la poblacional de *Bacillus* sp., *Lactobacillus*, bacterias, hongos, actinomicetos y *Pseudomonas* sp., los cuales presentaron capacidad de proliferar en el producto final vermicompost.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la aplicación de microorganismos benéficos, bajo sistema de producción de vermicompost en zanja, esto podría aportar estratégicamente en el desarrollo, producción y rendimiento en las áreas periurbanas beneficiando a los agricultores, y así como también podría convertirse en una práctica adoptada a nuestras necesidades.
- Se recomienda el uso de microorganismo benéficos para mejorar las características físicoquímicas y biológicas del compost empleando menores volúmenes de agua.
- Se recomienda estudiar el efecto que podría tener la acción combinada de estos pequeños organismos junto con *Eisenia foetida* para obtener vermicompost a partir de otro tipo de excretas explotando el potencial benéfico para la agricultura, el ambiente y la industria.
- Evaluar la influencia de los microorganismos benéficos empleando otro tipo de excreta.
- Realizar estudios comparativos empleando otro tipo de microorganismo benéficos como por ejemplo el *Bacillus polymixa.*, (solubilizador de fosfato), *Bacillus firmus* (solubilizador de potasio), etc.
- Realizar trabajos de investigación entorno a la CE, puesto a que es un factor que muchas veces causa limitantes para el empleo de una enmienda orgánica como es el compost o vermicompost.
- Llevar el trabajo experimental a escala piloto empleando el modelo biológico *Raphanus Sativus* L. para evaluar su desarrollo en situ y su efecto supresor ante *Fusarium* sp.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-rahman, MA. 2016. Establishment of efficient cellulolytic bacterial consortium potential for designed composting of rice straw. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* 3(4): 211-228.

Adhikary, S. 2012. Vermicompost, the story of organic gold: A review. *Agricultural Sciences* 03(07): 905-917.

Aira, M.; Monroy, F.; Domínguez, J. 2007. Earthworms strongly modify microbial biomass and activity triggering enzymatic activities during vermicomposting independently of the application rates of pig slurry. *Science of the Total Environment* 385(1-3): 252-261pp.

Aira, M; Bybee, S; Pérez-Losada, M; Domínguez, J. 2015. Feeding on microbiomes: Effects of detritivory on the taxonomic and phylogenetic bacterial composition of animal manures. *FEMS Microbiology Ecology* 91(11): 1-10.

Aira, M; Domínguez, J. 2010. Earthworms and microorganisms: disentangling the black box of vermicomposting. (English) 26: 385-395p.

Aira, M; Domínguez, J. 2009. Microbial and nutrient stabilization of two animal manures after the transit through the gut of the earthworm *Eisenia foetida* (Savigny, 1826). *Journal of Hazardous Materials* 161(2-3): 1234-1238.

Akbar Babael, A; Goudarzi, G; Neisi, A; Ebrahimi, Z; Alavi, N. 2016. Vermicomposting of cow dung, kitchen waste and sewage sludge with bagasse using *Eisenia foetida*. *Environmental health* 4(42): 88-94.

Albanell, E; Plaixats, J. 1988. Composición química del estiércol de vaca fresco y maduro durante el vermicompostaje. *Biología ambiental. Actas del congreso de biología ambiental tomo II. II Congreso mundial Vasco*

Albanell, E; Plaixats, J; Cabrero, T. 1988. Chemical changes during vermicomposting (*Eisenia foetida*) of sheep manure mixed with cotton industrial wastes. *Biology and Fertility of Soils* 6(3): 266-269.

Alfonso, ET.; Leyva, Á.; Hernández, A. 2007. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Revista colombiana de biotecnología* 7(2): 47-54pp.

Alvarado, Y; Martín, MC; Mena, E; Suárez, MA; Roque, B; Pichardo, T; Aguila, LG; Terry, FJ; Hurtado, O; Veitía, N. 2015. Efecto de *Bacillus* spp. sobre el crecimiento y rendimiento agrícola de plantas in vitro de papa. *Biotecnología Vegetal* 15(2): 115-122.

Alvarez, M. 2018. Caracterización de microorganismos benéficos provenientes de tres pisos altitudinales de Azuay - Ecuador y su influencia en el cultivo de fresa. 2018p.

Alvarez, M; Tucta, F; Quispe, E; Meza, V. 2018. Incidence of the inoculation of beneficial microorganisms in the strawberry (*Fragaria* sp.) crop. *Scientia Agropecuaria* 9(1): 33-42.

Am-Euras, J. 2009. Earthworms vermicompost: A powerful crop nutrient over the conventional compost & protective soil conditioner against the destructive chemical fertilizers for food safety and security. *J. Agric. & Environ. Sci* 5(S): 1-55pp.

Arancon, NQ; Edwards, CA; Babenko, A; Cannon, J; Galvis, P; Metzger, JD. 2008. Influences of vermicomposts, produced by earthworms and microorganisms from cattle manure, food waste and paper waste, on the germination, growth and flowering of petunias in the greenhouse. *Applied Soil Ecology* 39(1): 91-99.

Arango, S; Montoya, J; Y. Flor, D. 2016. Análisis fisicoquímico y microbiológico del proceso de co-compostaje a partir de biomasa de leguminosa y ruminaza *Physicochemical and microbiological analysis of co-composting process from biomass legume and bovine rumen*. 10(2): 345-354.

Arias, A. 2010. Microorganismos Eficientes y su Beneficio para La Agricultura y el Medio ambiente. *Journal de ciencia e ingeniería* 02(02): 42-45pp.

Atiyeh, RM; Domínguez, J; Subler, S; Edwards, CA. 2000. Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eisenia andrei*, Bouché) and the effects on seedling growth. 724: 709-724.

Atiyeh, RM; Subler, S; Edwards, CA; Bachman, G; Metzger, JD; Shuster, W. 2000. Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil. *Pedobiologia* 44(5): 579-590.

Atlas, R.; Bartha, R. 2008. *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. España, Pearson Addison Wesley, 677p.

Barbado, J. 2003. *Cria de lombrices*. Microemprendimientos Editorial Albatros: 128p.

Barbazán, M; Del Pino, A; Moltini, C; Hernández, J; Rodríguez, J. 2011. Caracterización de materiales orgánicos aplicados en sistemas agrícolas intensivos de Uruguay. *Agrociencia Uruguay* 15(1): 82–92.

Barillari, J; Cervellati, R; Costa, S; Guerra, MC; Speroni, E; Utan, A; Iori, R. 2006. Antioxidant and choleric properties of *Raphanus sativus* L. sprout (Kaiware Daikon) extract. *Journal of agricultural and food chemistry* 54(26): 9773-9778.

Barre, S; Stalin, M. 2003. Estudio nutricional comparativo de bokashis inoculados con levaduras y con Microorganismos eficientes (EM) de primera y segunda generación a dos diferentes concentraciones en Zamorano. 2003.

Bautista-Baños, S. 2006. El control biológico en la reducción de enfermedades postcosecha en productos hortofrutícolas: uso de microorganismos antagónicos. *Revista Iberoamericana de tecnología postcosecha* 8(1): 1-6.

Benitez, E; Nogales, R; Elvira, C; Masciandaro, G; Ceccanti, B. 1999. Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludges composting with *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology* 67(3): 297-303.

Bernal, MP; Albuquerque, JA; Moral, R. 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource Technology* 100(22): 5444-5453.

Bhat, SA; Singh, J; Vig, AP. 2016. Effect on growth of earthworm and chemical parameters during vermicomposting of pressmud sludge mixed with cattle dung mixture. *Procedia Environmental Sciences* 35: 425-434.

Biernbaum, JA. 2015. Vermicomposting and vermiculture systems for cold climates. 2015: 1-19.

Bobadilla, H; Rincon, S. 2008. Aislamiento y producción de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de vegetales. 2008: 97p.

Brown, G. 1995. How do earthworms affect microfloral and fauna community diversity? *Plant Soil* 170.

Brusca, R.; Brusca, g. 2005. Invertebrados. McGraw-hill Interamericana. España: 1005pp.

Buchsbaum, R.; Milne, L. 1961. El mundo de la naturaleza. Los invertebrados. 1961: 318p.

Campitelli, P; Velasco, M; Ceppi, S. 2012. Characterization of humic acids derived from rabbit manure treated by composting-vermicomposting process. *Journal of soil science and plant nutrition* 12 (4), 875-891.

Canellas, LP; Olivares, FL; Aguiar, NO; Jones, DL; Nebbioso, A; Mazzei, P; Piccolo, A. 2015. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia horticultrae* 196: 15-27.

Cariello, E; Casta, L; Gonz, J; Verde, O. 2007. Inoculante de microorganismos endógenos para acelerar el proceso compostaje de residuos sólidos urbanos. 7(3): 26-37.

Carreras, B. 2011. Aplicaciones de la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* en el control de fitopatógenos. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 12(2): 129-133.

Carrión, G. 2005. Curso de nutrición ambiente manejo de desechos pecuarios . Facultad de Zootecnia. Universidad Agraria la Molina, Perú. 2005: 50p.

- Castañeda, E; Consuelo, L. 2016. Evaluation of growth of four species of the genus *Bacillus* sp., the first step to understand their biocontrol effect on *Fusarium* sp. 2016: 10.
- Castillo, AE; Quarín, SH; Iglesias, MC. 2000. Vermicompost chemical and physical characterization from raw and mixed organic wastes. *Agricultura técnica I*: 8p.
- Chang, CH; Szlavecz, K; Buyer, JS. 2016. Species-specific effects of earthworms on microbial communities and the fate of litter-derived carbon. *Soil biology and biochemistry* 100: 129-139.
- Chaoui, HI; Zibilske, LM; Ohno, T. 2003. Effects of earthworm casts and compost on soil microbial activity and plant nutrient availability. *Soil biology and biochemistry* 35(2): 295-302.
- Chattopadhyay, G. 2012. Use of vermicomposting biotechnology for recycling organic wastes in agriculture. *International journal of recycling of organic waste in agriculture* 1(1): 1-6.
- Choi, KC; Cho, SW; Kook, SH; Chun, SR; Bhattarai, G; Poudel, SB; Kim, MK; Lee, KY; Lee, JC. 2016. Intestinal anti-inflammatory activity of the seeds of *Raphanus sativus* L. in experimental ulcerative colitis models. *Journal of Ethnopharmacology* 179: 55-65.
- Chung, WC; Huang, JW; Huang, HC. 2005. Formulation of a soil biofungicide for control of damping-off of *Chinese cabbage* (*Brassica chinensis*) caused by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control* 32(2): 287-294.
- Citernesi, U; Neglia, R; Seritti, A; Lepidi, AA; Filippi, C; Bagnoli, G; Nuti, MP; Galluzzi, R. 1977. Nitrogen fixation in the gastro-enteric cavity of soil animals. *Soil Biology and Biochemistry* 9(1): 71-72.
- Compagnoni, L.; Putzolu, G. 2001. Cria moderna de las lombrices y utilización rentable del humus. 2001: 126p.
- D. Thushari N, W; Dassanayake, KB; Scales, PJ; Sommer, SG; Chen, D. 2018. Effect of Australian zeolite on methane production and ammonium removal during anaerobic digestion of swine manure. *Biochemical Pharmacology* 2018.

Das, D.; Bhattacharyya, P.; Ghosh, BC.; Banik, P. 2016. Bioconversion and biodynamics of *Eisenia foetida* in different organic wastes through microbially enriched vermiconversion technologies. *Ecological Engineering* 86: 154-161pp.

Davis, ME.; Parrott, T.; Brown, DC.; De Rodas, BZ.; Johnson, ZB.; Maxwell, CV.; Rehberger, T. 2008. Effect of a *Bacillus*-based direct-fed microbial feed supplement on growth performance and pen cleaning characteristics of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science* 86(6): 1459-1467pp.

Di-Masso, R.; Marc, L.; Biasatti, N. 1997. Earthworm *Eisenia foetida* (Savigny) growth in Coypu and other animal faeces as nutritional subsegments. *Megadrilologica* 6(12): 105-112.

Díaz, F; Savage, G. 2007. Compost science and technology. Waste management series volume, v.4, 49-64pp.

Domínguez, J; Edwards, CA; Ashby, J. 2001. The biology and population dynamics of *Eudrilus eugeniae* (Kinberg)(Oligochaeta) in cattle waste solids. 353: 341-353.

Domínguez, J; Gómez-Brandón, M; Lazcano, C. 2010. Propiedades bioplaguicidas del vermicompost. *Acta Zoológica Mexicana* 2: 373-383.

Domínguez, J; Parmelee, RW; Edwards, CA. 2003. Interactions between *Eisenia andrei* (Oligochaeta) and nematode populations during vermicomposting. *Pedobiologia* 47(1): 53-60.

Domínguez, J; Velando, A; Ferreira, A. 2005. Are *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouché (1972) (Oligochaeta, Lumbricidae) different biological species? *Pedobiologia* 49(1): 81-87.

Domínguez, J; y Gómez-Brandón, M. 2010. Ciclos de vida de las lombrices de tierra aptas para el vermicompostaje 2(2): 309-320.

Drake, HL; Horn, MA. 2007. As the Worm Turns: The earthworm gut as a transient habitat for soil microbial biomes. *Annual Review of Microbiology* 61(1): 169-189.

Durán, L; Carlos, H. 2010. El vermicompost : su efecto en algunas propiedades del suelo y la respuesta en planta. *Agronomía Mesoamericana* 21(1): 85-93.

Durán, L; Henríquez, C. 2009. Crecimiento y Reproducción de la Lombriz Roja ( *Eisenia foetida* ) en cinco sustratos orgánicos. *Agronomía Costarricense* 33(2): 275-281.

Durán, L; Henríquez, C. 2007. Caracterización química, física y microbiológica de vermicompostes producidos a partir de cinco sustratos orgánicos. *Agronomía Costarricense* 31(1): 41-51.

Edwards, C.; Arancon, N.; Sherman, R. 2010. *Vermiculture Technology. Earthworms, organic wastes, and environmental management.* United States of America, CRC Press, 600p.

Edwards, C. 1998. The use of earthworms in the breakdown and management of organic wastes. In *Earthworm Ecology.* Ed. Clive Edwards. Soil and Water Conservation Society Ankeny, Iowa. St. Lucie Press. 327-353.

Edwards, C; Scott, S; Arancon, N. 2011. *Quality Criteria for Vermicompost.* Vermiculture technology. United States of America, CRC Press, p.301.

Edwards, CA; Fletcher, KE. 1988. Interactions between earthworms and microorganisms in organic-matter breakdown. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 24(1-3): 235-247.

Elvira, C; Sampedro, L; Benítez, E; Nogales, R. 1998. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: A pilot-scale study. *Bioresource Technology* 63(3): 205-211.

Ersahin, Y. 2011. The use of vermicompost products to control plant diseases and pests. *Soil Biology* 24: 25p.

Escobar Escobar, N; Mora Delgado, J; Romero Jola, NJ. 2012. Identificación de poblaciones microbianas en compost de residuos orgánicos de fincas cafeteras de Cundinamarca. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural* 16 (1): 75-88.

Escudero de Fonseca, A; Arias Villamizar, CA. 2012. Los microorganismos en los abonos orgánicos a partir de podas en la Universidad del Norte, Colombia. no.1: 67-75.

Etesami, H; Emami, S; Alikhani, HA. 2017. Potassium solubilizing bacteria (KSB):: Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - A review. *Journal of soil science and plant nutrition* 17(4): 897-911.

Fan, Y Van; Lee, CT; Siong, C. 2017. Evaluation of Microbial Inoculation Technology for Composting. 56(2016): 433-438.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) . 2015. World fertilizer trends and outlook to 2018. Roma, s.e., 66p.

Fernández-Gómez, MJ; Nogales, R; Insam, H; Romero, E; Goberna, M. 2010. Continuous-feeding vermicomposting as a recycling management method to revalue tomato-fruit wastes from greenhouse crops. *Waste Management* 30(12): 2461-2468.

Fernández G, MJ. 2011. Aplicación de la tecnología del vermicompostaje para la valorización agronómica de residuos y desechos de cultivos de invernadero. Tesis para optar al grado de doctor europeo por la Universidad de Granada. España. 423p.

Flores, R; Del Castillo, F; Rodríguez, J.; Mora, R; Colinas, M; Lozoya, H. 2009. Influencia de la radiación solar de semilla-tubérculo. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15(básica II): 25-30.

Fornes, F; Mendoza-Hernández, D; García de la Fuente, R; Abad, M; Belda, RM. 2012. Composting versus vermicomposting: A comparative study of organic matter evolution through straight and combined processes. *Bioresource Technology* 118: 296-305.

García Conde, MR; Solano Fajardo, V; Palomino Torres, A. 2005. Cría de la lombriz de tierra: una alternativa ecológica y rentable. Fundación Colombia, s.e., 83p.

García, L; Suárez, Y; Hernández, R; Betancourt, A. 2009. Estiércol Bovino: Mitos y realidades. *Asociación Cubana de Producción Animal* (4): 36-37.

- Gardiner M, S. 1978. Biología de los invertebrados. Omega/Mcgraw Hill. España: 940p.
- Garg, P; Gupta, A; Satya, S. 2006. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. *Bioresource Technology* 97(3): 391-395.
- Garg, VK; Chand, S; Chhillar, A; Yadav, A. 2005. Growth and reproduction of *Eisenia foetida* in various animal wastes during vermicomposting. *Applied Ecology and Environmental Research* 3(2): 51-59.
- Gómez-Álvarez, R; Lázaro-Jerónimo, G; León-nájera, J a. 2008. Bean ( *Phaseolus vulgaris* L .) and radish ( *Rhabanus sativus* L .) production in biointensive home gardens at the humid. *Universidad y Ciencia. Trópico Húmedo* 24(1): 11-20.
- Gómez-Brandón, M; Lazcano, C; Domínguez, J. 2008. The evaluation of stability and maturity during the composting of cattle manure. *Chemosphere* 70(3): 436-444.
- Gómez-Brandón, M; Lazcano, C; Lores, M; Dominguez, J. 2010. Papel de las lombrices de tierra en la degradación del bagazo de uva: efectos sobre las características químicas y la microflora en las primeras etapas del proceso. *Acta Zoologica Mexicana* no.12: 397-408.
- Gómez, EF. 2017. Efecto de *Trichoderma asperellum* cepa T34 y compost en plantas de tomate frente estrés biótico. Departamento de Biología Evolutiva, Ecología y Ciencias Ambientales 2017.
- Gou, C; Wang, Y; Zhang, X; Lou, Y; Gao, Y. 2017. Inoculation with a psychrotrophic-thermophilic complex microbial agent accelerates onset and promotes maturity of dairy manure-rice straw composting under cold climate conditions. *Bioresource Technology* 243: 339-346.
- Guardia, A De; Petiot, C; Rogeau, D; Druilhe, C. 2008. Influence of aeration rate on nitrogen dynamics during composting. 28: 575-587.
- Gupta, V. 2012. Beneficial Microorganisms for sustainable agriculture. 2012: 347-369.
- Han, B.; Long, WQ.; He, JY.; Liu, YJ.; Si, YQ.; Tian, LX. 2015. Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunological parameters, intestinal

morphology and resistance of juvenile *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish and Shellfish Immunology* 46(2): 225-231pp.

Hao, X; Chang, C. 2002. Effect of 25 annual cattle manure applications on soluble and exchangeable cations in soil. *Soil Science* 167(2): 126-134.

Harada, Y; Haga, K; Osada, T; Izawa, T; Nishimura, Y. 1998. Decomposition of organic matter during the maturing process of cattle waste compost. *Nihon Chikusan Gakkaiho* 69(12): 1085-1093.

Haro-Marti, M.; Agenbroad, A; McCammon, T. 2014. Composting of dairy manure and grape vine prunings using three. *Proceedings of the Idaho nutrient management conference* 7: 33-37.

Hernández - A, J; Chacin, L; Avila, J; El khatib, N; Chirinos, I; Bracho, B. 2011. Methods salinity management of cattle dung for vermicomposting with the red worm ( *Eisenia andrei* ). *Revista Facultad de Agronomia* 1: 342-350p.

Hernández, J; Chacín, L; Avila, J; Khatib, N El; Chirinos, I; Bracho, B. 2011. Methods salinity management of cattle dung for vermicomposting with the red worm ( *Eisenia andrei* ). 28: 342-350.

Herrera, JA.; Mischis, C. 1994. Influence of feeding in the biological cycle of *Eisenia foetida Savigny* (Annelida, oligochaeta, lumbricidae) 5(11): 117-124.

Hidalgo-Cortés, V. 2017. Caracterización e Identificación de microorganismos presentes en lombricomposta y lombriz ( *Eisenia foetida* ). 4(13): 33-37.

Higa, T.; Parr, JF. 1989. Microorganismos benéficos y efectivos para una agricultura t medio ambiente sostenible. 1989: 1-14pp.

Hoa, TT.; Duc, LH.; Istatico, R.; Baccigalupi, L.; Ricca, E.; Van, PH.; Cutting, SM. 2001. Fate and Dissemination of *Bacillus subtilis* spores in a Murine Model. *Applied and Environmental Microbiology* 67(9): 3819-3823.

Holguin Castaño, VA; Mora Delgado, J. 2009. Dinámica microbiana en vermicompostas comerciales con y sin inoculación del hongo trichoderma spp. no.29: 18-24.

Hoyos, D.; Alvis, N.; Jabib, L.; Garcés, M.; Pérez, D.; Mattar, S. 2008. Utilidad de los Microorganismos Eficaces (EM®) en una explotación avícola de Córdoba: Parámetros productivos y control ambiental. Revista MVZ Córdoba 13(2): 1369-1379.

Huang, K; Li, F; Wei, Y; Chen, X; Fu, X. 2013. Changes of bacterial and fungal community compositions during vermicomposting of vegetable wastes by *Eisenia foetida*. Bioresource Technology 150: 235-241.

Huang, K; Xia, H. 2018. Role of earthworms' mucus in vermicomposting system: Biodegradation tests based on humification and microbial activity. Science of the Total Environment 610-611: 703-708.

Hughes, RJ; Nair, J; Ho, G. 2009. The risk of sodium toxicity from bed accumulation to key species in the vermifiltration wastewater treatment process. Bioresource Technology 100(16): 3815-3819.

ICMS. 1983. International commission on microbiological specifications for foods. Acribia Part II.

Iglesias, L. 1995. El estiércol y las prácticas agrarias respetuosas con el medio ambiente. Ministerio de agricultura pesca y alimentación 1995: 1-24.

Inbar, Y; Hadar, Y; Chen, Y. 1993. Recycling of cattle manure: The composting process and characterization of maturity. Journal of environment quality 22(4): 857.

INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria). 2014. Síntesis informativa síntesis informativa.

Iparraguirre, R. 2007. Tipo de excreta y degradación aeróbica de estiércol en el compostaje. Tesis para optar el grado de Ingeniero Zootecnista. Universidad Agraria la Molina, Perú. 115 p.

Izquierdo, FG; García, AC; Berbara, RLL; Balmori, DM; Bassó, R. 2017. Los ácidos húmicos de vermicompost protegen a las plantas de arroz ( *Oryza sativa* L .) contra estrés hídrico posterior. 38(2): 53-60.

Janisiewicz, WJ. 1998. Biocontrol of postharvest diseases of apples with antagonist mixtures. *Phytopathology* 78(2): 194-198.

Jefatura UEZ. 2016. Fórmulas de concentrados nutricionales del ganado vacuno y equino. Área de Experimentación de Zootecnia. Universidad Agraria La Molina. 2016.

Juodeikiene, G; Bartkiene, E; Cernauskas, D; Cizeikiene, D; Zadeike, D; Lele, V; Bartkevics, V. 2018. Antifungal activity of lactic acid bacteria and their application for *Fusarium* mycotoxin reduction in malting wheat grains. *LWT - Food Science and Technology* 89: 307-314.

Karaca, A. 2011. *Biology of earthworms*. Turkey, Springer, Berlin, Heidelberg, v.24, 332p.

Karsten, G.; Drake, H. 1995. Comparative assessment of the aerobic and anaerobic microfloras of earthworm guts and these include : Comparative assessment of the aerobic and anaerobic microfloras of earthworm guts and forest soils. *Applied and Environmental Microbiology* 61(3): 1039-1044.

Karsten, G; Drake, HL. 1997. Denitrifying bacteria in the earthworm gastrointestinal tract and in vivo emission of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) by earthworms. *Applied Environmental Microbiology*. 63:1878 –82A. *Applied and Environmental microbiology* 63: 1887-1882.

Kaushik, P; Garg, VK. 2004. Dynamics of biological and chemical parameters during vermicomposting of solid textile mill sludge mixed with cow dung and agricultural residues. *Bioresource technology* 94(2): 203-209.

Kaviraj; Sharma, S. 2003. Municipal solid waste management through vermicomposting employing exotic and local species of earthworms. *Bioresource technology* 90(2): 169-173.

KriStufek, V Ravasz k, Pizl. 1993. Actinomycete communities in earthworm guts and surrounding soil. *Pedobiologia* 37: 379-348.

Kumar, A; Gupta, RK. 2018. The effects of vermicompost on growth and yield parameters of vegetable crop radish ( *Raphanus sativus* ). 7(2): 589-592.

Kumar, A; Paul, SC; Kumar, A; Rani, M. 2018. Comparative assessment of physicochemical and biological quality characters of vermicompost from different biomass substrates. 7(01): 89-97.

Kumar, R; Shweta. 2011. Enhancement of wood waste decomposition by microbial inoculation prior to vermicomposting. Bioresource Technology 102(2): 1475-1480.

Kumar, R; Verma, D; Singh, BL; Kumar, U; Shweta. 2011. Composting of sugar-cane waste by-products through treatment with microorganisms and subsequent vermicomposting. Bioresource Technology 101(17): 6707-6711.

De la Mora, A; Valero-Galván, J. 2016. Sucesión bacteriana del género *Bacillus* en el proceso de compostaje y lombricompostaje con diferentes fuentes de estiércol. Medio Ambiente y desarrollo sustentable: 23-31.

Lazcano, C; Domínguez, J. 2011. The use of vermicompost in sustainable agriculture : impact on plant growth. Nova Science Publishers, Inc. 2011: 1-23.

Lazcano, C; Gómez-brandón, M; Domínguez, J. 2008. Chemosphere comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. 72: 1013-1019.

Lazcano, C; Gómez-Brandón, M; Domínguez, J. 2008. Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. chemosphere 72(7): 1013-1019.

Lee, J-K; Park, I; Choi, Y-J; Cho, J-S. 2012. *Bacillus* strains as feed additives: In vitro evaluation of its potential probiotic properties. Revista colombiana de ciencias pecuarias 25: 577-585.

Lim, PN; Wu, TY; Clarke, C; Nik Daud, NN. 2015. A potential bioconversion of empty fruit bunches into organic fertilizer using *Eudrilus eugeniae*. International Journal of Environmental Science and Technology 12(8): 2533-2544.

Lim, SL.; Lee, LH.; Wu, TY. 2016. Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: Recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis. *Journal of Cleaner Production* 111: 262-278.

Liu, J. 2013. Phosphorus leaching as influenced by animal manure and catch crops. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Department of Soil and Environment Uppsala

Lv, B; Xing, M; Yang, J; Qi, W; Lu, Y. 2013. Chemical and spectroscopic characterization of water extractable organic matter during vermicomposting of cattle dung. *Bioresource Technology* 132: 320-326.

Macgregor, ST; Miller, FC; Psarianos, KM; Finstein, MS. 1981. Composting process control based on interaction between microbial heat output and temperature. *Applied and environmental microbiology* (41): 1321-1330.

Maji, D; Misra, P; Singh, S; Kalra, A. 2017. Humic acid rich vermicompost promotes plant growth by improving microbial community structure of soil as well as root nodulation and mycorrhizal colonization in the roots of *Pisum sativum*. *Applied Soil Ecology* 110: 97-108.

Majlessi, M; Eslami, A; Najafi Saleh, H; Mirshafieean, S; Babaii, S. 2012. Vermicomposting of food waste: Assessing the stability and maturity. *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering* 9(25): 1-6.

Mari, M; Martini, C; Spadoni, A; Rouissi, W; Bertolini, P. 2012. Postharvest Biology and technology biocontrol of apple postharvest decay by *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biology and Technology* 73: 56-62.

Marshall, A.; William, W. 2011. *Zoología Invertebrados*. 2011: 433p.

Maruta, K.; Muyazaki, H.; Masuda, S.; Takahashi, M.; Marubashi, T.; Tandano, Y.; Takahashi, H. 1996. Exclusion feeding of intestinal with *Bacillus* on the in broilers pathogens subtilis intestinal by continuous and its influence microflora. *Animal Science Technology* 67(3): 273-280.

Mazzarino, MJ; Hernández, MT. 2005. Composting vs . Vermicomposting : A Comparison of end product quality. 13(1): 6-13.

Medina Lara, S; Quintero, R; Espinosa, D; Alarcón, A; Etchevers, JD; Trinidad, A; Víctor, F; Martínez, C. 2017. Generación de un inoculante acelerador del compostaje. Revista Argentina de Microbiología

Meglitsch, P. 1972. Ciencias de la naturaleza. Ed. HB Ediciones. s.e., 906p.

Mende, S.; Krzyzanowski, L.; Jaros, D.; Rohm, H. 2012. Growth and exopolysaccharide yield of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* DSM 20081 in batch and continuous bioreactor experiments at constant pH. Journal of Bioscience and Bioengineering 113(2): 185-191.

Mérida, M de los Á.; Chang, KH. 2012. Experiencias del ICTA en la producción de abonos orgánicos. Revista Argentina de Microbiología 32p.

Meza, V. 2009. Curso de Biotecnología Ambiental Avanzada. s.l., Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú, 42p.

Milián, G.; Pérez, M.; Bocourt, R. 2008. Empleo de probióticos basado en *Bacillus* sp y de sus endosporas en la producción avícola. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 42(2): 117-122.

MINAG (Ministerio de Agricultura y Riego del Perú). 2012. Decreto Supremos N 016-2012-AG: 10p.

Minh Tran, QN; Mimoto, H; Nakasaki, K. 2015. Inoculation of lactic acid bacterium accelerates organic matter degradation during composting. International biodeterioration and biodegradation 104: 377-383.

Misra, R.; Roy, RN.; Hiraoka, H. 2003. On-farm composting methods. land and water discussion paper 2(9): 51p.

Mitchell, A. 1997. Production of *Eisenia fetida* and vermicompost from feed-lot cattle manure. Soil Biology and Biochemistry 29(3-4): 763-766.

- Monroy, F; Aira, M; Domínguez, J. 2008. Changes in density of nematodes, protozoa and total coliforms after transit through the gut of four epigeic earthworms (Oligochaeta). *Applied Soil Ecology* 39(2): 127-132.
- Morales, BM; Vázquez-González, FJ; González-Fernández, R; Mora-Covarrubias, AD La; Quiñonez-Martínez, M; Díaz-Sánchez, ÁG; Martínez-Martínez, A; Nevárez-Moorillón, V; Valero-Galván, J. 2017. Evaluation of antagonist capacity of bacillales strains isolated from vermicompost leachate on phytopatogenic fungi. *Acta Universitaria* 27(5): 44-54.
- Morales, H; Marín, S; Ramos, AJ; Sanchis, V. 2010. Influence of post-harvest technologies applied during cold storage of apples in *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation: A review. *Food Control* 21(7): 953-962.
- Mousavi, SA; Faraji, M; Janjani, H. 2017. Recycling of three different types of rural wastes employing vermicomposting technology by *Eisenia foetida* at low temperature. *19(4)*: 601-606.
- Mullins, G; Joern, B; Moore, P. 1996. Etude des méthodes d'analyse des lixiviats - Recensement des interférences possibles. *Rapports scientifiques and techniques* 1(46): 125.
- Mumpton, F. 1999. La roca magica : Uses of natural zeolites in agriculture and industry. *96*: 3463-3470.
- Nandi, B; Bhandari, SC; Meena, RH. 2012. Effect of nutrient supplementation and microbial inoculation on enrichment of vermicompost using earthworm (*Eisenia foetida*). *Asian Journal of Soil Science* 7(2): 242-244.
- Nasiru, A; Ismail, N; Ibrahim, MH. 2013. Vermicomposting: Tool for sustainable ruminant manure management. *Journal of waste management* 2013: 1-7.
- Ndegwa, PM; Thompson, SA. 2001. Integrating composting and vermicomposting in the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresource Technology* 76(2): 107-112.
- Neuhauser, EF.; Kaplan, DL.; Malecki, MR.; Hartenstein, R. 1980. Materials supporting weight-gain by the earthworm *Eisenia foetida* in waste conversion systems. *Agricultural Wastes* 2(1): 43-60.

Noori, M; Zendehtel, M; Ahmadi, A. 2006. Using natural zeolite for the improvement of soil salinity and crop yield. *Toxicological and Environmental Chemistry* 88(1): 77-84.

Ö-NORM S 2023. 1993. (1.11.1993). Methoden der Prüfung und Überwachung Qualität von Kompost. Ed. AS Institute. Republik Österreich, Institute, Austrian Standards, 1745pp.

Ö - NORM S 2023. 2001. Wassergehalt. BGBl,II. Republik Österreich, Verlagspostamt 1030 Wien, 1778 pp.

OCDE-FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2017. Carne: situación del mercado 2017.

Ong, HK; Chew, BH; Suhaimi, M. 2001. Effect of effective microorganisms on composting characteristics of. 29(2): 189-196.

Onwosi, CO; Igbokwe, VC; Odimba, JN; Eke, IE; Nwankwoala, MO; Iroh, IN; Ezeogu, LI. 2017. Composting technology in waste stabilization: on the methods, challenges and future prospects. *Journal of Environmental Management* 190: 140-157.

Orberá, T.; Serrat, M.; Ortega, E. 2014. Potencialidades de la cepa SR/B-16 de *Bacillus subtilis* para el control de enfermedades causadas por hongos en cultivos de interés agrícola. *Biotecnología aplicada* 31(1): 7-12pp.

Otárola S. 2007. Parámetros de calidad en compostaje de cuatro niveles de estiércol de ovino . Tesis para optar el grado de ingeniero zootecnista. Universidad Agraria la Molina, Perú. 100 p.

Pairintra, C; Pakdee, P. 1988. Population Dynamics of Effective Microorganisms under Saline Soil Conditions in Thailand C. Soil Science Department, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand.

Park, K. 2011. Composting of food waste and mixed poultry manure inoculated with effective microorganisms. *Engineering in agriculture, environment and food* 4(4): 106-111.

Parthasarathi, K; Ranganathan, LS. 1999. Longevity of microbial and enzyme activity and their influence on NPK content in pressmud vermicasts. *European Journal of Soil Biology*

35(3): 107-113.

Pathma, J; Sakthivel, N. 2012. Microbial diversity of vermicompost bacteria that exhibit useful agricultural traits and waste management potential. SpringerPlus 1(1): 1-19.

Patidar, A; Gupta, R; Tiwari, A. 2013. Potential of microbial inoculated water hyacinth amended thermophilic composting and vermicomposting in biodegradation of agro-industrial waste. Journal of bioremediation & biodegradation 04(05).

Pedraza, RO.; Teixeira, KR. .; Fernández Scavino, A.; De Salamone, IG.; Baca, BE.; Azcón, R.; Baldani, VL.; Bonilla, R. 2010. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revista Corpoica 11: 155-164.

Peralta, L.; Juscamaita, J.; Meza, V. 2016. Obtaining and characterising an organic liquid fertilizer due to the treatment of dairy farm cattle manure using a lactic. 15(1): 1-10.

Del Pino, A; Reppeto, C; Mori, C; Perdomo, C. 2008. Patrones de descomposición de estiércoles en el suelo. Terra Latinoamericana 26(1): 43-52.

Pinos, JM.; Garcia, JC.; Peña, LY.; Rendon, JA.; González, C.; Tristán, F. 2012. Impactos y regulaciones ambientales del estiércol generado por los sistemas ganaderos de algunos países de América. Agrociencia 46(4): 359-370.

Prakash Pandit, N; Nabeel, A; Kumar Maheshwari, S. 2012. Vermicomposting Biotechnology: An eco-Loving approach for recycling of solid organic wastes into valuable biofertilizers. Journal of Biofertilizers & Biopesticides 03(01): 1-8.

Pramanik, P. 2010. Changes in microbial properties and nutrient dynamics in bagasse and coir during vermicomposting: Quantification of fungal biomass through ergosterol estimation in vermicompost. Waste Management 30(5): 787-791.

Rao, MS; Kamalnath, M; Umamaheswari, R; Rajinikanth, R; Prabu, P; Priti, K; Grace, GN; Chaya, MK; Gopalakrishnan, C. 2017. *Bacillus subtilis* IHR BS-2 enriched vermicompost controls root knot nematode and soft rot disease complex in carrot. Scientia Horticulturae 218: 56-62.

Recalde, CG.; Echeverría, MM.; Castro, RP. 2013. Descomposición de materia orgánica con microorganismos benéficos magnetizados. *Informacion Tecnologica* 24(6): 9-16.

Restrepo, J. 2001. Elaboración de abonos orgánicos fermentados y biofertilizantes foliares. 2001: 155.

Rienzo, J Di; Tablada, M; Gonzalez, L; Bruno, C; Robledo, W; Casanoves, F. 1995. *Estadística Y Bienestar*.

Ríos, Y. 2003. Importancia de las lombrices en la agricultura. *Sistemas Integrados de Produccion con no rumiantes*: 47-52.

Rivero, R. 1993. *La lombricultura y sus fundamentos*. Primera ed España, S.A.P.T, 302p.

Rojas, A. 2011. *Conceptos y práctica de microbiología general*. Universidad Nacional de Colombia, 161.

Román, P; Martínez, MM; Pantoja, A. 2013. *Manual de compostaje del agricultor. Experiencias en America Latina* 108p.

Romero-Tepal, EM; Contreras-Blancas, E; Navarro-Noya, YE; Ruíz-Valdiviezo, VM; Luna-Guido, M; Gutiérrez-Miceli, FA; Dendooven, L. 2014. Changes in the bacterial community structure in stored wormbed leachate. *Journal of molecular microbiology and biotechnology* 24(2): 105-113.

Romero, E; Salido, A; Cifuentes, C; Fernández, JD; Nogales, R. 2006. Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial wastes. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 86(3-4): 289-297.

Rynk, R. 1992. *On-Farm Composting Handbook*. New York, NRAES-54, 200p.

Saavedra, M. 2007. Biodegradación del alperujo utilizando hongos del género *Pleurotus* y anélidos de la especie *Eisenia foetida*. Universidad de Granada. 227 p.

Salazar S, E; Trejo-escareño, HI; López-martínez, JD; Vázquez-vázquez, C; Serratorcorona, JS; Orona-castillo, I; Flores-márgez, JP. 2010. Residual effect of cow manure on

silage corn yield and soil properties. 2010: 381-390.

Salazar S, E; Vazquez Vz, C; Antonio, LRJ; Fortiz Hernandez, M; Montemayor Trejo, JA; Figueroa Viramontes, R; Lopez Martines, JD. 2004. Mineralización del estiércol bovino y su impacto en la calidad del suelo y la producción de tomate (*Lycopersicum sculentum Mill*) bajo riegosub-superficial. Pyton revista internacional de botánica experimental 10: 259-273.

Saludes, RB; Iwabuchi, K; Miyatake, F; Abe, Y; Honda, Y. 2008. Characterization of dairy cattle manure/wallboard paper compost mixture. Bioresource Technology 99(15): 7285-7290.

Santamaría Romero, S; Cerrato, R. 2002. Population Dynamics of *Eisenia Andrei* (Bouche 1972) in Different Organic Wastes. Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados: 303-310.

Saravanakumar, D; Ciavorella, A; Spadaro, D; Garibaldi, A; Gullino, ML. 2008. *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 outcompetes *Botrytis cinerea* , *Alternaria alternata* and *Penicillium expansum* in apples through iron depletion. 49: 121-128.

Sasaki, H; Nonaka, J; Otawa, K; Kitazume, O; Asano, R. 2009. Analysis of the Structure of the bacterial community in the Livestock Manure-based Composting Process \*. 22(1): 113-118.

Sauri Riancho, MR; Nájera Aguilar, HA; Ramírez Herrera, JG; Mejía Sánchez, GMM. 2002. Aplicación del composteo como método de tratamiento de los residuos de frutas producidos en zonas de alta generación. Ingeniería 6(1): 13-20.

Schallmey, M.; Singh, A.; Ward, OP. 2004. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. Canadian Journal of Microbiology 50(1): 1-17.

Schuldt, M. 2006. Lombricultura. Teoría y práctica. Ed. M Prensa. Madrid, s.e., 306p.

Schuldt, M.; Rumi, A.; . GG; . DE; Caloni, N.; Bodnar, J.; Revora, N.; Tasso, V.; Valenti, M.; Varela, J.; de Belaustegui, H. 2005. Culture of *Eisenia foetida* (Annelida, Lumbricidae) on puffed rice scrap in outdoors and laboratory conditions. Ecologia Austral

15(2): 217-227.

Schuldt, M; Rumi, A; Gutiérrez, DE. 2005. Determinacion de "edades" (clases) en poblaciones de *Eisenia foetida* ( *Annelida: Lumbricidae* ) y sus implicancias reprobilógicas. Revista del Museo de La Plata 17: 1-10.

Shah, AI. 2016. Earthworm As Soil Ecosystem Engineers: a Review. International Journal of Advanced Research 4(9): 377-382.

Sharma, A; Tarak, NS; Anju, A; Raghubir, S; Lata, N. 2017. Efficient microorganism compost benefits plant growth and improves soil health in *Calendula* and *Marigold*. Horticultural Plant Journal 2017.

Sharma, RR; Singh, D; Singh, R. 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. Biological Control 50(3): 205-221.

Sierra, J; Desfontaines, L; Faverial, J; Loranger-Merciris, G; Boval, M. 2013. Composting and vermicomposting of cattle manure and green wastes under tropical conditions: Carbon and nutrient balances and end-product quality. Soil Research 51(2): 142-151.

Silva De Mendonça, Costa, MS; Cestonaro, T; De Mendonça, Costa, LA; Rozatti, MAT; Carneiro, LJ; Pereira, DC; Lorin, HEF. 2015. Improving the nutrient content of sheep bedding compost by adding cattle manure. Journal of Cleaner Production 86: 9-14.

Singh, A; Sharma, S. 2002. Composting of a crop residue through treatment with microorganisms and subsequent vermicomposting. Bioresource Technology 85(2): 107-111.

Singleton, DR; Hendrix, PF; Coleman, DC; Whitman, WB. 2003. Identification of uncultured bacteria tightly associated with the intestine of the earthworm *Lumbricus rubellus* (Lumbricidae; Oligochaeta). Soil Biology and Biochemistry 35(12): 1547-1555.

Sinha; Rajiv; Herat; Sunil; Valani; Dalsukhbhai; Chauhan; Krunalkumar. 2009. Earthworms Vermicompost: A powerful crop nutrient over the conventional compost & protective soil conditioner against the destructive chemical fertilizers for food safety and security. Am-Euras. J. Agric. & Environ. Sci 5(S): 1-55.

- Sotelo, LI.; Jiménez, JA.; Tarsicio de Zan, A.; Cueto, C. 2012. Effect of inoculation of microorganisms on radish growth ( *Raphanus sativus* ). 10(1): 21-31.
- Srinivasan, K.; Mathivanan, N. 2011. Plant growth promoting microbial consortia mediated classical biocontrol of sunflower necrosis virus disease. Journal of Biopesticides 4(1): 65-72.
- Storer, T.; Usinger, R.; Stebbins, R.; Nybakken, J. 2003. Zoología general. 6 ed. España, Omega, 954p.
- Suthar, S. 2009. Vermicomposting of vegetable-market solid waste using *Eisenia foetida*: Impact of bulking material on earthworm growth and decomposition rate. Ecological Engineering 35(5): 914-920.
- Suthar, S; Singh, S. 2008. Comparison of some novel polyculture and traditional monoculture vermicomposting reactors to decompose organic wastes. Ecological Engineering 33(3-4): 210-219.
- Suthar, S; Singh, S. 2008. Feasibility of vermicomposting in biostabilization of sludge from a distillery industry. Science of the Total Environment 394(2-3): 237-243p.
- Tam, NK.; Uyen, NQ.; Hong, HA.; Le, H.; Hoa, TT.; Serra, CR.; Henriques, AO.; Cutting, SM. 2006. The intestinal life cycle of *Bacillus subtilis* and close relatives. Journal of Bacteriology 188(7): 2692-2700.
- Tapia, C; Amaro, J. 2014. Revista Chilena de Infectología. Revista Chilena de Infectología 31(1): 85-86.
- Tapia, ME; Fries, AM. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. Asociación Nacional de Productores Ecológicos del Perú. 221.
- Tineo, A. 1994. Crianza y manejo de lombrices de tierra con fines agrícolas. Centro agronómico tropical de investigación y enseñanza (CATIE) 42p.
- Tiunov, A V.; Scheu, S. 2004. Carbon availability controls the growth of detritivores (Lumbricidae) and their effect on nitrogen mineralization. Oecologia 138(1): 83-90.

- Tognetti, C; Laos, F; Mazzarino, MJ; Hernández, MT. 2005. Composting vs. vermicomposting: A comparison of end product quality. *Compost Science and Utilization* 13(1): 6-13.
- Tortarolo, MF; Pereda, M; Palma, M; Arrigo, NM. 2008. Influencia de la inoculación de microorganismos sobre la temperatura en el proceso de compostaje. *26(1): 41-50.*
- Trevisan, S; Francioso, O; Quaggiotti, S; Nardi, S. 2010. Humic substances biological activity at the plant-soil interface: From environmental aspects to molecular factors. *Plant Signaling and Behavior* 5(6): 635-643.
- Tripathi, G; Bhardwaj, P. 2004. Comparative studies on biomass production, life cycles and composting efficiency of *Eisenia fetida* (Savigny) and *Lampito mauritii* (Kinberg). *Bioresource Technology* 92(3): 275-283.
- Turan, NG. 2008. The effects of natural zeolite on salinity level of poultry litter compost. *Bioresource Technology* 99(7): 2097-2101.
- Uddain, J; Chowdhury, S; Rahman, M. 2014. Efficacy of organic manures on growth and yield of radish ( *Raphanus sativus* L.) cv. 9(1): 57-60.
- Uribe, J; Estrada, M; Bedoya, DM. 2001. Evaluación de los Microorganismos eficaces ( E . M ) en producción de abono orgánico a partir del estiércol de aves de jaula . 14(8): 164-172.
- USEPA. 1994. A plain English guide to EPA part 503 biosolids rule. Office of Wastewater Management. Washington, Dc, D.C, EPA/ 832/R-93/003. 180.
- Valencia, D; Valdez, P; Ortiza, S. 2014. Eficiencia de la lombriz roja *Eisenia foetida* en colonizar sustratos. *Revista Colombiana de Ciencia Animal* 6(2): 305-310.
- Vance, GF; Hongting, Z; Urynowicz, MA; Ganjegunte, GK; Gregory, RW. 2007. Potential utilization of natural zeolites for treating coalbed natural gas ( CBNG ) Produced Waters Studies. 2007: 837-844.

Vazquez, J. 2018. Recuperacion de suelos degradados por el manejo de *Gypsophila paniculata* bajo condiciones de la Molina. 2018: 200p.

Venter, J.; Reinecke, A. 1988. The life-cycle of the compost worm *Eisenia fetida* (Oligochaeta). South African Journal of Zoology 23(3): 161-165.

Villa-Martínez, A; Pérez-Leal, R; Morales-Morales, HA; Ba-Surto-Sotelo, M; Soto-Parra, JM; Martínez-Escudero, E. 2014. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. Acta Agronomica 64(2).

Villar, MC; Beloso, MC; Acea, MJ; Cabaneiro, A; González-Prieto, SJ; Carballas, M; Díaz-Raviña, M; Carballas, T. 1993. Physical and chemical characterization of four composted urban refuses. Bioresource Technology 45(2): 105-113.

Wang, K; He, C; You, S; Liu, W; Wang, W; Zhang, R; Qi, H; Ren, N. 2015. Transformation of organic matters in animal wastes during composting. Journal of hazardous materials 2015.

Wang, S; Fu, BJ; Gao, GY; Yao, XL; Zhou, J. 2012. Soil moisture and evapotranspiration of different land cover types in the Loess Plateau, China. Hydrology and Earth System Sciences 16(8): 2883-2892.

Wani, KA.; Mamta .; Rao, RJ. 2013. Bioconversion of garden waste, kitchen waste and cow dung into value-added products using earthworm *Eisenia fetida*. Saudi Journal of Biological Sciences 20(2): 149-154.

Wilkinson, KM. 2009. Nursery Manual for Native Plants: A guide for tribal nurseries. Nursery management. Agriculture Handbook 730. Washington, D.C., Forest Service, v.1, p.247-261.

Yasir, M; Aslam, Z; Kim, SW; Lee, SW; Jeon, CO; Chung, YR. 2009. Bacterial community composition and chitinase gene diversity of vermicompost with antifungal activity. Bioresource Technology 100(19): 4396-4403.

Zamora, K; Castro, L; Wang, A; Arauz, LF; Uribe, L. 2017. Uso potencial de lixiviados y téis de vermicompost en el control del ojo de gallo del cafeto *Mycena citricolor*. 41(1): 33-51.

Zandonadi, DB; Busato, JG. 2012. Vermicompost humic substances: technology for converting pollution into plant growth regulators. Journal, International Science, Environmental 3(2): 73-84.

Zhang, H; Wang, L; Ma, L; Dong, Y; Jiang, S; Xu, B; Zheng, X. 2009. Biocontrol of major postharvest pathogens on apple using *Rhodotorula glutinis* and its effects on postharvest quality parameters. Biological Control 48(1): 79-83.

Zhao-liang, LU; Li-wang, LIU; Xiao-yan, LI; Yi-qin, G; Xi-lin, HOU; Xian-wen, ZHU; Jin-lan, Y. 2008. Analysis and evaluation of nutritional quality in chinese Radish (*Raphanus sativus* L.). 7(July): 823-830.

Zhong, XZ; Ma, SC; Wang, SP; Wang, TT; Sun, ZY; Tang, YQ; Deng, Y; Kida, K. 2018. A comparative study of composting the solid fraction of dairy manure with or without bulking material: Performance and microbial community dynamics. Bioresource Technology 247: 443-452.

Zhu, FX; Yao, YL; Wang, SJ; Du, RG; Wang, WP; Chen, XY; Hong, CL; Qi, B; Xue, ZY; Yang, HQ. 2015. Housefly maggot-treated composting as sustainable option for pig manure management. Waste Management 35: 62-67.

Zhu, J. 2000. A review of microbiology in swine manure odor control. Agriculture, Ecosystems and Environment 78(2): 93-106.

## VIII. ANEXOS

### ANEXO 1. Análisis de estiércol de vacuno.

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA</b> FACULTAD DE AGRONOMIA LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES					
<b>INFORME DE ANALISIS DE MATERIA ORGANICA</b>						
SOLICITANTE	:	SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARI				
PROCEDENCIA	:	LIMA				
MUESTRA DE	:	ESTIÉRCOL				
REFERENCIA	:	H.R. 57665				
FACTURA	:	103				
FECHA	:	01/03/17				
Nº LAB	CLAVES	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	K <sub>2</sub> O %	CaO %	MgO %	Na %
097	Gallina	6.41	3.07	9.94	1.45	0.75
098	Vacuno	3.71	3.20	1.91	1.06	0.39
099	Caballo	1.79	2.98	2.61	0.97	0.43
 Sady García Bendezú Jefe de Laboratorio						
Av. La Molina s/n Campus UNALM Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe						

**ANEXO 2. Determinación de enumeración de Escherichia coli NMP/g y detección de Salmonella sp en 25 g.**

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA</b> Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Perú Teléfono: 6147800 anexo 274	
<b>INFORME DE ENSAYO N° 1803073 - LMT</b>		
<b>SOLICITANTE : SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARÍ</b>		
<b>DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO</b>		
<b>MUESTRA : EXCRETAS FRESCAS DE VACUNO</b> <b>( 1803073)</b>		
<b>PROCEDENCIA</b>	: UNALM	
<b>TIPO DE ENVASE</b>	: Bolsa de plástico	
<b>CANTIDAD DE MUESTRA</b>	: 01 muestra x 01 und. x 1 000 g aprox.	
<b>ESTADO Y CONDICIÓN</b>	: En buen estado y cerrado	
<b>FECHA DE MUESTREO</b>	: 2017 - 08 - 01	
<b>FECHA DE RECEPCIÓN</b>	: 2017 - 08 - 02	
<b>FECHA DE INICIO DE ENSAYO</b>	: 2017 - 08 - 03	
<b>FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO</b>	: 2017 - 08 - 12	
<b>RESULTADOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</b>		
<b>Análisis Microbiológico</b>		<b>Muestra 1803073</b>
¹Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/g.)		27 x 10 <sup>4</sup>
¹Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 g.		Ausencia
<b>Método:</b> ¹International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.		
<b>Observaciones:</b> Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestra proporcionada por el solicitante. Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita. Validez del documento: Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.		
La Molina, 29 de Agosto, 29 de 2017.		
<b>DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA</b> Jefe del Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso" Universidad Nacional Agraria La Molina Teléfono: 614 7800 anexo 274 E-mail: lmt@lamolina.edu.pe		
<b>LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA "MARINO TABUSSO"</b> - (511) 6147800 anexo 274 - E-mail: lmt@lamolina.edu.pe Apartado Postal 456 - Lima 12 - PERU		

### ANEXO 3. Caracterización microbiológica del consorcio empleado para el proceso de compostaje y vermicompostaje

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA</b> Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Perú Teléfono: 6147800 anexo 274	
<b>INFORME DE ENSAYO N° 1805212- LMT</b>		
<b>SOLICITANTE</b>	: SILVIA GEOVANA VALECELA ABAMBARI	
<b>DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO</b>		
<b>MUESTRA</b>	: <b>1805212) CONSORCIO MICROBIANO</b>	
<b>PROCEDENCIA</b>	: UNALM - CEMTRAR	
<b>TIPO DE ENVASE</b>	: Bolsa de Plástico	
<b>CANTIDAD DE MUESTRA</b>	: 01 muestra x 01 und. x 200 mL. aprox.	
<b>ESTADO Y CONDICIÓN</b>	: En buen estado y cerrado	
<b>FECHA DE MUESTREO</b>	: 2018 - 01 - 05	
<b>FECHA DE RECEPCIÓN</b>	: 2018 - 01 - 05	
<b>FECHA DE INICIO DE ENSAYO</b>	: 2018 - 01 - 08	
<b>FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO</b>	: 2018 - 01 - 08	
<b>RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA</b>		
<b>Análisis Microbiológico</b>		<b>Muestra 1805212</b>
¹Recuento de aerobios mesófilos viables (UFC/ml.)		22 x 10 <sup>5</sup>
¹Recuento de bacterias ácido lácticas (UFC/ml.)		24 x 10 <sup>4</sup>
<b>Métodos:</b> ¹International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.		
<b>Observaciones:</b> Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestras proporcionadas por el solicitante. Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita. Validez del documento: Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.		
La Molina, 12 de Enero de 2018		
<b>DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA</b> Jefe del Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso" Universidad Nacional Agraria La Molina Teléfono: 6147800 anexo 274 E-mail: <a href="mailto:imt@lamolina.edu.pe">imt@lamolina.edu.pe</a>		
<b>LABORATORIO DE ECOLOGÍA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGÍA "MARINO TABUSSO"</b> - (511) 614-7800 anexo 274 - E-mail: <a href="mailto:imt@lamolina.edu.pe">imt@lamolina.edu.pe</a> Apartado Postal 456 - Lima 12 - PERU		

## ANEXO 4. Análisis de agua de riego.

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA</b> FACULTAD DE AGRONOMIA LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES	
<b>ANALISIS DE AGUA</b>		
SOLICITANTE :	SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARI	
PROCEDENCIA :	LIMA/ CEMTRAR	
REFERENCIA :	H.R. 63876	
No. Laboratorio	361	
No. Campo	Agua de riego	
pH		7.75
C.E.	dS/m	0.52
Calcio	meq/L	3.60
Magnesio	meq/L	0.63
Potasio	meq/L	0.06
Sodio	meq/L	0.99
SUMA DE CATIONES		5.28
Nitratos	meq/L	0.00
Carbonatos	meq/L	0.00
Bicarbonatos	meq/L	1.71
Sulfatos	meq/L	1.52
Cloruros	meq/L	2.00
SUMA DE ANIONES		5.23
Sodio	%	18.75
RAS		0.88
Boro	ppm	0.20
Clasificación		C2-S1

La Molina, 14 de Enero del 2018



*Dr. Sady García Benbezú*  
Jefe del Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5822  
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe



## ANEXO 5. Determinación fisicoquímica en el tratamiento TA

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA</b> FACULTAD DE AGRONOMIA LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES					
<b>INFORME DE ANALISIS ESPECIAL</b>						
SOLICITANTE	:	SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARI				
PROCEDENCIA	:	LIMA/ CENTRAR				
MUESTRA DE	:	EXTRACTO DE COMPOST				
REFERENCIA	:	H.R. 63878				
FECHA	:	28/01/18				
<b>Nº LAB</b>	<b>CLAVES</b>	<b>K %</b>	<b>Na %</b>	<b>Mg %</b>	<b>Ca %</b>	<b>P %</b>
3289	TA Excreta lavada sin onículo	1.90	0.26	0.97	3.00	1.54
						
<i>Dr. Sady García Benítez</i> Jefe de Laboratorio						
Av. La Molina s/n Campus UNALM Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 348-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe						

## ANEXO 6. Determinación fisicoquímica en el tratamiento TB

N° LAB	CLAVES	K %	Na %	Mg %	Ca %	P %
3290	TB Excreta inoculada con mobis	1.89	0.33	1.05	3.18	1.78

*D<sup>a</sup> Sady García Bendezú*  
*Jefe de Laboratorio*

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

**ANEXO 7. Determinación de enumeración de *Escherichia coli* NMP/g y detección de *Salmonella* sp en 25 g en el producto final compost tratamiento TA (compost prelavado)**

 <b>UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA</b> Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Perú Teléfono: 6147800 anexo 274								
<b>INFORME DE ENSAYO N° 1803075 - LMT</b>								
<b>SOLICITANTE : SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARI</b> <b>DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO</b> <b>MUESTRA : PRE COMPOST LAVADO SIN INOCULO</b> <b>. 1803075)</b>								
<b>PROCEDENCIA</b> <b>TIPO DE ENVASE</b> <b>CANTIDAD DE MUESTRA</b> <b>ESTADO Y CONDICIÓN</b> <b>FECHA DE MUESTREO</b> <b>FECHA DE RECEPCIÓN</b> <b>FECHA DE INICIO DE ENSAYO</b> <b>FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO</b>	: UNALM : Bolsa de plástico : 01 muestra x 01 und. x 1 000 g aprox. : En buen estado y cerrado : 2018 - 01 - 04 : 2018 - 01 - 04 : 2018 - 01 - 08 : 2018 - 01 - 08							
<b>RESULTADOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</b>								
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Análisis Microbiológico</th> <th>Muestra 1803075</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><sup>1</sup>Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/g.)</td> <td style="text-align: center;">&lt; 3</td> </tr> <tr> <td><sup>1</sup>Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 g.</td> <td style="text-align: center;">Ausencia</td> </tr> </tbody> </table>		Análisis Microbiológico	Muestra 1803075	<sup>1</sup> Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/g.)	< 3	<sup>1</sup> Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 g.	Ausencia	
Análisis Microbiológico	Muestra 1803075							
<sup>1</sup> Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/g.)	< 3							
<sup>1</sup> Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 g.	Ausencia							
<p>Nota: El valor &lt; 3 indica ausencia de microorganismos en ensayo</p> <p><b>Método:</b>  <sup>1</sup> International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.</p>								
<p><b>Observaciones:</b>          Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestra proporcionada por el solicitante.          Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita.          Validez del documento:          Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.</p>								
		La Molina, 11 de Enero de 2018.						
<p>DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA          Jefe del Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso"          Universidad Nacional Agraria La Molina          Teléfono: 614 7800 anexo 274          E-mail: lmt@lamolina.edu.pe</p>								
<b>LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA "MARINO TABUSSO"</b> ☐ (511) 6147800 anexo 274 - E-mail: <a href="mailto:lmt@lamolina.edu.pe">lmt@lamolina.edu.pe</a> Apartado Postal 456 - Lima 12 - PERU								

**ANEXO 8. Determinación de enumeración de Escherichia coli NMP/g y detección de Salmonella sp en 25 g en el producto final compost tratamiento TB (compost inoculado con MB)**

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA</b> Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Perú Teléfono: 6147800 anexo 274	
	<b>INFORME DE ENSAYO N° 1803074 - LMT</b>	
<b>SOLICITANTE : SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARI</b> <b>DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO</b> <b>MUESTRA : PRE COMPOST INOCULADO</b> <b>1803074)</b>		
PROCEDENCIA : UNALM TIPO DE ENVASE : Bolsa de plástico CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 1 000 g aprox. ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado FECHA DE MUESTREO : 2018 - 01 - 04 FECHA DE RECEPCIÓN : 2018 - 01 - 04 FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2018 - 01 - 08 FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2018 - 01 - 08		
<b>RESULTADOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</b>		
<b>Análisis Microbiológico</b>	<b>Muestra</b> <b>1803074</b>	
<sup>1</sup> Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/g.) <sup>1</sup> Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 g.	< 3 Ausencia	
Nota: El valor < 3 indica ausencia de microorganismos en ensayo <b>Método:</b> <sup>1</sup> International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.		
<b>Observaciones:</b> Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestra proporcionada por el solicitante. Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita. Validez del documento: Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.		
		La Molina, 11 de Enero de 2018.
DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA Jefe del Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso" Universidad Nacional Agraria La Molina Teléfono: 614 7800 anexo 274 E-mail: lmt@lamolina.edu.pe		
<b>LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA "MARINO TABUSSO"</b> ☐ (511) 6147800 anexo 274 - E-mail: lmt@lamolina.edu.pe Apartado Postal 456 - Lima 12 - PERU		

## ANEXO 9. Determinación de cationes $P_2O_5$ , $K_2O$ , Ca, MgO, Na



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
 FACULTAD DE AGRONOMIA  
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



### INFORME DE ANALISIS ESPECIAL

SOLICITANTE : SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARÍ

PROCEDENCIA : LIMA/ CEMTRAR

MUESTRA DE : EXTRACTOS DE VERMICOMPOST

REFERENCIA : H.R. 63877

FECHA : 05/07/18

N° LAB	CLAVES	$P_2O_5$ %	$K_2O$ %	Ca %	MgO %	Na %
3253	LBZR1	0.66	1.34	5.05	2.00	0.16
3254	TMTR1	0.65	1.46	4.47	1.84	0.16
3255	TLTR1	0.76	1.37	4.45	1.92	0.23
3256	LMZR1	0.75	1.39	5.27	1.51	0.16
3257	LBTR1	0.68	1.41	4.16	1.61	0.16
3258	MMZR1	0.67	1.16	3.73	1.47	0.24
3259	LMTR1	0.65	1.49	4.42	1.84	0.26
3260	MMTR1	0.70	1.60	4.44	1.54	0.32
3261	TMZR1	0.72	1.43	3.74	1.42	0.19
3262	MBTR1	0.72	1.58	4.53	1.92	0.21
3263	TLZR1	0.75	1.60	4.69	1.92	0.20
3264	MBZR1	0.71	1.71	4.74	1.84	0.21
3265	MMTR2	0.73	1.57	4.67	1.63	0.22
3266	MBZR2	0.71	1.46	4.46	2.00	0.19
3267	LMZR2	0.67	1.13	3.89	1.48	0.16
3268	TLTR2	0.74	0.75	2.60	0.95	0.15
3269	MMZR2	0.74	1.53	4.81	1.92	0.18
3270	TMTR2	0.63	0.86	2.53	0.90	0.15



Dr. Sady García Bendeza  
 Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe



### INFORME DE ANALISIS ESPECIAL

SOLICITANTE : SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARI  
PROCEDENCIA : LIMA/ CEMTRAR  
MUESTRA DE : EXTRACTOS DE VERMICOMPOST  
REFERENCIA : H.R. 63877  
FECHA : 05/07/18

Nº LAB	CLAVES	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	K <sub>2</sub> O %	Ca %	MgO %	Na %
3271	LBTR2	0.78	1.34	4.38	1.84	0.19
3272	TLZR2	0.75	1.08	4.18	1.46	0.15
3273	LMTR2	0.76	1.16	4.20	1.46	0.17
3274	TMZR2	0.73	1.65	4.58	2.00	0.23
3275	LBZR2	0.68	1.80	4.48	1.59	0.24
3276	MBTR2	0.68	1.53	4.60	1.62	0.20
3277	TMZR3	0.68	1.51	4.27	1.66	0.21
3278	MMTR3	0.71	1.76	4.52	2.00	0.26
3279	MBZR3	0.70	1.66	4.72	1.65	0.19
3280	LMTR3	0.74	1.44	4.40	1.59	0.19
3281	MBTR3	0.74	1.57	4.72	1.92	0.19
3282	LBZR3	0.77	1.24	4.40	1.69	0.15
3283	TLTR3	0.72	1.37	4.28	1.45	0.16
3284	MMZR3	0.74	1.49	4.45	1.84	0.16
3285	LBTR3	0.76	1.34	4.48	1.50	0.16
3286	TLZR3	0.76	1.28	4.14	1.45	0.18
3287	TMTR3	0.78	1.86	5.20	1.75	0.22
3288	LMZR3	0.66	0.88	3.16	1.18	0.15



Dr. ~~2018~~ García Benédiz  
Jefe de Laboratorio

**ANEXO 10. Determinación de Ácidos húmicos, fulvicos y huminas en los compost obtenidos en los tratamientos TA (prelavado) y TB (inoculado)**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
**FACULTAD DE AGRONOMIA**  
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



**INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE  
MATERIA ORGANICA**

SOLICITANTE : SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARI  
 PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA  
 MUESTRA DE : COMPOST  
 REFERENCIA : H.R. 63358  
 FECHA : 15/01/18

Nº LAB	CLAVES	Acidos Húmicos %	Acidos Fúlvicos %	Huminas %
394	Excreta lavada sin Inóculo	3.51	1.31	41.62
395	Excreta sin lavar con Inóculo	3.66	1.47	39.75



*Dr. Lady García Benítez*  
**Jefe de Laboratorio**

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
 e-mail: lab\_suelo@lamolina.edu.pe

**ANEXO 11. Determinación de Ácidos húmicos, fúlvicos y huminas en los productos finales de las unidades experimentales**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
**FACULTAD DE AGRONOMIA**  
**LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES**



**INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE  
MATERIA ORGANICA**

SOLICITANTE : SILVIA GEOVANNA VELECELA ABAMBARÍ

PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA/ CEMTRAR

MUESTRA DE : VERMICOMPOST

REFERENCIA : H.R. 63165

FECHA : 27/04/18

Nº LAB	CLAVES	Acidos Húmicos %	Acidos Fúlvicos %	Huminas %
300	T5 LBT	4.74	1.66	24.92
301	T6 LBZ	5.07	1.04	26.28
302	T7 LMT	4.79	1.46	26.87
303	T8 LMZ	4.67	1.38	23.81
304	T0 TMZ	4.63	1.19	24.81
305	T TMT	4.59	1.66	24.78
306	T1 MBT	4.60	1.16	21.35
307	T2 MBZ	4.25	1.60	22.23
308	T3 MMT	4.67	1.30	21.55
309	T4 MMZ	5.20	1.61	27.01
310	T TLT	4.21	1.33	28.62
311	T0 TLZ	4.85	1.19	28.96



Dr. *Sally Garcia Bendezú*  
**Jefe de Laboratorio**

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

**ANEXO 12. Análisis de variancia del crecimiento de las plantas de *Raphanus Sativus* L los 15 días.**

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor	Nivel de significancia
A	1	1,76	1,76	8,35	0,0081	**
B	2	3,33	1,66	7,92	0,0023	**
C	1	0,00	0,00	0,00	0,9771	NS
A*B	2	0,86	0,43	2,06	0,1489	NS
A*C	1	0,03	0,03	0,17	0,6879	NS
B*C	2	0,14	0,07	0,34	0,7165	NS
A*B*C	2	0,26	0,13	0,63	0,5411	NS
Error	24	5,05	0,21			
Total	35	11,47				
C.V.					10,20	
Promedio					4,47	

**ANEXO 13. Análisis de variancia del crecimiento de las plantas de *Raphanus Sativus* L a los 30 días.**

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor	Nivel de significancia
A	1	3,13	3,13	0,95	0,3399	NS
B	2	113,89	56,94	17,24	<,0001	**
C	1	55,70	55,70	16,86	0,0004	**
A*B	2	24,65	12,32	3,73	0,0388	*
A*C	1	8,27	8,27	2,50	0,1266	NS
B*C	2	17,67	8,83	2,68	0,0894	NS
A*B*C	2	17,84	8,92	2,70	0,0875	NS
Error	24	79,28	3,30			
Total	35	320,47				
C.V.					14,23%	
PROMEDIO					12,76	

**ANEXO 14. Análisis de variancia del crecimiento de las plantas *Raphanus Sativus* L a los 45 días.**

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor	nivel de significancia
A	1	11,79	11,79	1,15	0,2935	NS
B	2	119,85	59,92	5,86	0,0085	**
C	1	125,7	125,70	12,29	0,0018	**
A*B	2	48,09	24,04	2,35	0,1169	NS
A*C	1	10,9	10,90	1,07	0,3122	NS
B*C	2	18,87	9,43	0,92	0,4112	NS
A*B*C	2	22,78	11,39	1,11	0,3447	NS
Error	24	245,52	10,23			
Total	35	603,53				
C.V.					14,99%	
Promedio					21,33	

**ANEXO 15. Análisis de variancia del diámetro ecuatorial de *Raphanus Sativus* L .**

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor	Nivel de significancia
A	1	0,02	0,02	0,17	0,6820	NS
B	2	1,84	0,92	7,07	0,0039	**
C	1	2,10	2,10	16,07	0,0005	**
A*B	2	1,58	0,79	6,04	0,0075	**
A*C	1	0,14	0,14	1,12	0,2998	NS
B*C	2	0,12	0,06	0,48	0,6222	NS
A*B*C	2	1,12	0,56	4,31	0,0251	NS
Error	24	3,140	0,13			
Total	35	10,090				
C.V.	8,67					
Promedio	4,17					

**ANEXO 16. Análisis de variancia del diámetro polar de *Raphanus Sativus* L.**

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor	Nivel de significancia
A	1	0,08	0,08	0,16	0,6958	NS
B	2	34,30	17,15	33,45	<,0001	**
C	1	10,13	10,15	19,76	0,0002	**
A*B	2	5,80	10,13	5,66	0,0097	**
A*C	1	1,73	2,90	3,38	0,0784	NS
B*C	2	3,04	1,73	2,97	0,0706	NS
A*B*C	2	1,50	1,52	1,47	0,2496	NS
Error	24	12,307	0,51			
Total	35	68,916				
C.V.					14	
Promedio					5,08	

**ANEXO 17. Análisis de variancia del peso de biomasa (tallos y hojas) de *Raphanus Sativus* L.**

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor	Nivel de significancia
A	1	30,69	30,69	0,16	0,6946	NS
B	2	2707,46	1353,73	6,97	0,0041	**
C	1	1262,85	1262,85	6,50	0,0176	*
A*B	2	1224,06	612,03	3,15	0,0610	NS
A*C	1	0,68	0,68	0,00	0,9530	NS
B*C	2	159,34	79,67	0,41	0,6682	NS
A*B*C	2	555,06	277,53	1,43	0,2594	NS
Error	24	4664,240	194,34			
Total	35	10604,410				
C.V.		9,72%				
Promedio		143,40				

**ANEXO 18. Análisis de variancia del peso fresco de hipocotilo de Raphanus Sativus L.**

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor	Nivel de significancia
A	1	413,78	413,78	9,19	0,0057	**
B	2	1985,25	992,62	22,06	<,0001	**
C	1	1119,23	1119,23	24,87	<,0001	**
A*B	2	170,23	85,11	1,89	0,1727	NS
A*C	1	74,56	74,56	1,66	0,2103	NS
B*C	2	700,11	350,05	7,78	0,0025	**
A*B*C	2	350,49	175,24	3,89	0,0343	*
Error	24	1080,070	45,00			
Total	35	5893,750				
C.V.	12,00					
Promedio	52,87					

**ANEXO 19. Análisis de variancia del peso seco de hipocotilo de Raphanus Sativus L.**

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor	Nivel de significancia
A	1	3,01	3,01	1,55	0,2256	NS
B	2	83,47	41,73	21,42	<,0001	**
C	1	20,80	20,80	10,68	0,0033	**
A*B	2	58,82	29,41	15,10	<,0001	**
A*C	1	2,95	2,95	1,52	0,2302	NS
B*C	2	7,50	3,75	1,93	0,1677	NS
A*B*C	2	44,77	22,38	11,49	0,0003	**
Error	24	46,755	1,95			
Total	35	268,100				
C.V.	13,77%					
Promedio	10,13					