

# “ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y PRUEBAS DE FITOTOXICIDAD EN VERMICOMPOSTA Y COMPOSTA.”

Gutiérrez-Pérez O.

Ingeniería Agroindustrial. Universidad Politécnica De Chiapas, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Correo electrónico: [omar.gutierrez.perez@hotmail.com](mailto:omar.gutierrez.perez@hotmail.com)

Estancia Industrial I, El Colegio De La Frontera Sur (ECOSUR), San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. 2011.

## Resumen.

La madurez de un abono orgánico se define como el grado de sustancias fitotóxicas presentes en el abono y se puede establecer mediante bioensayos de germinación con especies sensibles a metabolitos fitotóxicos (Varnero M, Rojas A, & Orellana R, 2007). Ésta prueba resulta rápida, sencilla y poco costosa, permitiendo que los agricultores puedan realizarlas en sus fincas (Soto & Meléndez, 2004). Para determinar la calidad de un abono se utilizan indicadores de madurez y estabilidad como el índice de germinación ya que es la variable más sensible y completa para evaluar el grado de madurez. En el experimento se prepararon extractos con relación 1:5, abono orgánico más agua destilada y se aplicaron a placas Petri junto con semillas de rábano (*Raphanus sativus*), el aplicarlos en contenedores pequeños tiene mayor relevancia ya que el poder fitotóxico es más potente. Se midió el porcentaje de germinación relativo (PGR), crecimiento de radícula relativo (CRR) e índice de germinación (IG). Los resultados obtenidos indican que la composta es el abono orgánico con mayor inmadurez ya que presenta un nivel de fitotóxicidad más elevado a comparación de la vermicomposta por lo que no se recomienda utilizarlo como sustrato en la agricultura debido a que pueden provocar efectos no deseados en las plantas.

El análisis microbiológico que se llevó a cabo fue para la determinación de microorganismos patógenos como la *Shigella* y la *Salmonella* que se encuentran presentes en abonos con poca estabilidad

**Palabras clave:** pruebas de germinación, análisis microbiológicos.

## Introducción.

El compostaje es un proceso aerobio durante el cual se transforman, mediante la acción microbiana, un sinnúmero de residuos orgánicos de origen vegetal y animal. La actividad microbiana que interviene en la transformación de los desechos orgánicos conduce a la producción de anhídrido carbónico, agua en forma de vapor, energía en forma de calor y finalmente se obtiene el abono orgánico (Romero Pinto, 2003). En contraste en el vermicompostaje se llevan a cabo reacciones de bioxidación y

estabilización de los materiales orgánicos por la intervención de lombrices (*Eisenia foetida*), que acondicionan y fragmentan el material orgánico obteniendo así el abono orgánico (Trujillo & Ortiz Cosio, 2009).

Los abonos orgánicos obtenidos durante el compostaje y el vermicompostaje son acondicionadores de suelos, estos se utilizan en la agricultura para mantener y mejorar la disponibilidad de nutrientes en el suelo y así obtener un mayor rendimiento a cuanto a producción en el cultivo (Santos Trinidad, 1999).

Durante muchos años los abonos orgánicos han sido aplicados a cultivos sin saber con qué grado de madurez o estabilidad se encuentran éstos, sin embargo existen metodologías para conocer la calidad en la que se encuentra un abono orgánico, tanto microbiológicas como químicas, en las pruebas microbiológicas se determinan que los abonos se encuentren libres de bacterias patógenas como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp*, *Shigella* y *Listeria monocytogenes* (Kim, Shepherd Jr, & Jiang, 2009). Estas bacterias son destruidas durante el proceso del compostaje debido a que las condiciones ambientales en las que se encuentran son desfavorables y son incapaces de competir por los nutrientes con la microbita autóctona presente en el suelo (Gómez D'Angelo, González González, & Chiroles Rubalcaba, 2004).

El tiempo de sobrevivencia de los microorganismos patógenos en los abonos orgánicos se deben a factores como la temperatura, el pH, tipo de suelo, método de composteo, y la fuente del material orgánico (Escuela Agrícola Panamericana, 2011). Los microorganismos patógenos pueden sobrevivir en una composta durante 60 días (FAO, 2000), esto dependerá de diversos factores mencionados anteriormente, aunque las nuevas contaminaciones son posibles por realizar el compostaje en lugares cercanos a las aéreas de producción, también es posible que se contamine si se deja en lugares descubiertos por estiércol de roedores o de pájaros (Escuela Agrícola Panamericana, 2011).

La madurez de un abono orgánico se evalúa a través de bioensayos con plantas sensibles a sustancias fitotóxicas, estos bioensayos tiene como finalidad conocer el grado de madurez en la que se encuentra el abono orgánico, Varnero *et*

*al.*, 2007, propone una metodología sencilla para estos bioensayos que consiste en hacer germinar semillas de rábano, lechuga o de berro en placas de Petri. Actualmente la Norma Chilena Oficial de Compost (NCh2880) establece la utilización de los bioensayos con semillas de rábano (*Raphanus sativus*) ya que poseen una gran sensibilidad a metabolitos fitotóxicos y una rápida germinación (Instituto Nacional De Normalización , 2004). El índice de germinación (IG) representa un indicador robusto para describir el potencial fitotóxico de un material orgánico y se obtiene integrando el porcentaje relativo de germinación y el crecimiento relativo de raíces. Esto permite establecer tres niveles de fitotoxicidad: severa, moderada y baja o nula, lo cual es determinante, cuando se incorporan estos materiales en pequeños contenedores, ya que se maximiza la zona de retención (efecto maceta), adquiriendo mayor relevancia el potencial fitotóxico (Varnero M, Rojas A, & Orellana R, 2007).

## **Materiales y Métodos.**

### **Pruebas de fitotoxicidad.**

Se utilizaron cinco semillas de rábano por cada placa de Petri, los abonos que se utilizaron para la prueba fueron de composta y vermicomposta los cuales fueron proporcionados por El Colegio De La Frontera Sur (ECOSUR), Unidad San Cristóbal de Las Casas. Se preparó el extracto con proporción 1:5, abono orgánico y agua destilada, es decir, se pesaron 10 g del abono y se diluyeron en 50 mL de agua destilada, se agitó la mezcla por 20 minutos con un agitador y se dejó sedimentar la solución para que los granos que no se hayan disuelto con el agua no impidieran el paso a través de la pipeta, se tomó 5 mL de esta solución con

una pipeta y se depositaron en las placas Petri que contenían 5 semillas sobre un papel filtro Watman en forma circular, éstas fueron comparadas con una muestra testigo de agua destilada, se mantuvieron en un lugar fijo por 5 días a temperatura ambiente hasta obtener el IG.

### Análisis microbiológicos

Para el análisis microbiológico se utilizaron los dos mismos abonos anteriormente mencionados (composta y vermicomposta), en estos se determinaron la presencia de microorganismos patógenos como la *Salmonella* y *Shigella* con el agar ss (agar salmonella-shigella), este agar se preparó de acuerdo a la NOM-114-SSA1-1994.

Para el inóculo.

Para obtener el inóculo se pesó 10 g del abono orgánico y se diluyó en 90 mL de agua peptonada, se agitó dentro de la campana de flujo laminar. Para mantener estéril el área de trabajo se encendió un mechero de Bunsen.

Diluciones y siembra.

Las diluciones que se realizaron fueron de la  $10^{-1}$  hasta la  $10^{-3}$ . Se tomó 1 mL del inóculo y se depositó en 9 mL de solución isotónica contenida en un tubo de ensaye, esta fue la dilución  $10^{-1}$ , posteriormente se tomó 1 mL de esta dilución y se depositó en otro tubo de ensaye que contenía la solución isotónica, se realizó los mismos pasos hasta llegar a la dilución de  $10^{-3}$ , posteriormente se tomó 1 mL de cada dilución y se sembraron en placas Petri estériles, con tres repeticiones por cada dilución, se agregó 20 mL del agar ss a las placas. Para comprobar la esterilidad de los materiales se agregó 20 mL de agar ss a tres placas Petri, las cuales fueron las muestras testigos, finalmente se esperó que se solidificara el

agar y se incubaron a 35-37 °C en una incubadora.

**Nota:** todos los procedimientos se realizaron en la campana de flujo laminar, y con un mechero Bunsen encendido. El agar ss se realizó el día del experimento ya que no se debe de esterilizar.

### Resultados y Discusión.

Índice de germinación (IG).

Para obtener el IG se utilizó la metodología propuesta por Tiquia (2000), en la cual se obtiene a partir del porcentaje de germinación relativo (PGR), crecimiento de radícula relativo (CRR) e índice de germinación (IG).

$$PGR = \frac{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el extracto} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el testigo}}$$

$$CRR = \frac{\text{Elongación de radícula en el extracto} \times 100}{\text{Elongación de radícula en el testigo}}$$

$$IG = \frac{PGR \times CRR}{100}$$

Los resultados obtenidos en la prueba de fitotoxicidad se muestran en el **Cuadro 1**. Como se puede observar la vermicomposta presenta un mayor índice de germinación, y por último la composta, comparando estos resultados con lo mencionado por Varnero *et al.*, 2007, los valores del índice de germinación (IG)  $\geq 80\%$  indican que no existen sustancias fitotóxicas que impidan la germinación de las semillas o bien que estas sustancias se encuentran en muy bajas concentraciones; si el IG  $\leq 50\%$  indica una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas capaces de inhibir el crecimiento y desarrollo de las plantas. Por lo tanto la vermicomposta está libre de sustancias fitotóxicas y en el caso de la composta la presencia de estas sustancias se encuentran moderadas.

**Cuadro 1.** Índices de germinación para la composta y vermicomposta.

Abono Orgánico	Índice de Germinación.
Vermicomposta	66.4224%
Composta	55.110%

Ver anexo.

### Análisis microbiológicos.

Los resultados para los análisis microbiológicos en los abonos orgánicos se muestran en el **Cuadro 2**. Como se observa la composta es el abono orgánico con mayor UFC/mL (Unidad Formadora de Colonias/ mL) de *Salmonella* y *Shigella*. La presencia de estos patógenos indican que el abono no se encuentra estable biológicamente, debido a que la materia orgánica no se ha descompuesto en su totalidad, razón por la cual estos m.o aun pueden aprovechar los nutrientes que contienen la materia orgánica.

**Cuadro 2.** UFC/mL en la composta y vermicomposta

Composta		
Diluciones	Repetición	UFC/mL
10 <sup>-1</sup>	1	28
10 <sup>-1</sup>	2	249
10 <sup>-1</sup>	3	147
10 <sup>-2</sup>	1	9
10 <sup>-2</sup>	2	29
10 <sup>-2</sup>	3	24
10 <sup>-3</sup>	1	1
10 <sup>-3</sup>	2	1
10 <sup>-3</sup>	3	3
Vermicomposta		
10 <sup>-1</sup>	1	0
10 <sup>-1</sup>	2	2
10 <sup>-1</sup>	3	0
10 <sup>-2</sup>	1	0
10 <sup>-2</sup>	2	2
10 <sup>-2</sup>	3	2
10 <sup>-3</sup>	1	0
10 <sup>-3</sup>	2	0
10 <sup>-3</sup>	3	0

### Conclusiones.

En el caso de la vermicomposta se llegó a la conclusión que es un abono orgánico libre de patógenos por lo que se puede utilizar en cualquier hortaliza sin correr ningún riesgo de contraer enfermedades provocadas por la *Salmonella* y la *Shigella*, sin embargo presentó un IG inferior a 80%, por lo que aun puede presentar un poco de inmadurez, es recomendable dejar en reposo unos días más y realizar la prueba de fitotóxicidad, para ver si su IG es mayor o igual a 80%, si fuera así, se considerará como un abono orgánico maduro. Para la composta, tanto por el IG y el análisis microbiológico se llegó a la conclusión que es un abono totalmente inmaduro, debido a que su IG está por muy debajo del 80% que indica que es un abono maduro y en el análisis microbiológico resultó con un elevado número de UFC/mL, por lo que no es recomendable su uso como sustrato en la agricultura.

### Bibliografía.

1. FAO. (2000). Inocuidad y calidad de los alimentos en relación con la agricultura orgánica. 22 Conferencia Regional de la FAO para Europa. Oporto, Portugal: 24-28 de julio 2000.

2. Gómez D'Angelo, Y. T., González González, M. I., & Chiroles Rubalcaba, S. (2004). Microorganismos presentes en el compost. Importancia de su control sanitario. *Medio Ambiente y Desarrollo*.
3. Instituto Nacional De Normalización . (2004). *Norma De Calidad De Compost*. Chile: Norma Chilena de Compost (NCh 2880-2004).
4. Kim, J., Shepherd Jr, M. W., & Jiang, X. (2009). *Evaluating the Effect of Environmental Factors on Pathogen Regrowth in Compost Extract*. Clemson, Carolina del Sur: Springer Science + Business Media.
5. Romero Pinto, M. (2003). *Producción ecológica certificada de hortalizas de clima frío*. Bogotá: CIAA.
6. Santos Trinidad, A. (1999). *Lombricultura Y Abonos Orgánicos*. México: Universidad Autónoma Chapingo.
7. Soto, G., & Meléndez, G. (2004). *Cómo medir la calidad de los abonos orgánicos*. Costa Rica: Hoja Técnica.
8. Trujillo, V. Y., & Ortiz Cosío, G. (2009). *Efecto de la Aireación en Indicadores de Madurez de Cuatro Abonos Orgánicos*. San Cristóbal de Las Casas, Chiapas: ECOSUR.
9. Varnero M, M. T., Rojas A, C., & Orellana R, R. (2007). *Índices De Fitotoxicidad En Residuos Orgánicos durante El Compostaje*. Chile: Universidad de Chile.
10. Zamorano - Escuela Agrícola Panamericana. (06 de Enero de 2011). Aumentando La Calidad Y Competitividad De La producción Agroalimentaria En Honduras. Tegucigalpa, Tegucigalpa, Honduras.

## Anexos.

### Anexo 1. Datos de la prueba de germinación en la composta.

5 días de germinación en las placas Petri.					
En mm	No. De semilla				
Repeticiones	1	2	3	4	5
1	16.69	17.29	20.97	44.83	24.38
2	8.92	34.73	44.34	29.93	39.95
3	17.4	8.99	32.51	40.64	43.69
4	42.69	17.33	24.58	76.36	65.37
5	77.17	48.04	53.72	43.77	44.95
Promedio de la elongación de radículas: <b>36.7696</b>					

$$\text{PGR} = \frac{25 \text{ semillas}}{25 \text{ semillas}} \times 100 \quad \text{PGR} = 100$$

$$\text{IG} = 55.110$$

$$\text{CRR} = \frac{36.7696}{66.7196} \times 100 \quad \text{CRR} = 55.110$$

### Anexo 2. Datos de la prueba de germinación de la vermicomposta.

5 días de germinación en las placas Petri.					
En mm	No. De semilla				
Repeticiones	1	2	3	4	5
1	82.74	43.42	12.77	92.97	11.36
2	52.91	41.37	45.98	63.46	8.75
3	42.15	46.19	46.19	70.84	12
4	70.84	56.75	69.43	45	47.36
5	49.39	26.48	30.66	28.55	10.36
Promedio de la elongación de radículas: <b>44.3168</b>					

$$\text{PGR} = \frac{25 \text{ semillas}}{25 \text{ semillas}} \times 100 \quad \text{PGR} = 100$$

$$\text{IG} = 66.4224$$

$$\text{CRR} = \frac{44.3168}{66.7196} \times 100 \quad \text{CRR} = 66.422$$

### Anexo 3. Datos de la prueba de germinación de la muestra testigo (agua destilada).

5 días de germinación en las placas Petri.					
En mm	No. De semilla				
Repeticiones	1	2	3	4	5
1	90.86	69.41	29.95	20.69	23.4
2	67	50.19	67.45	131.99	63.54
3	45.29	68.26	68.26	43.95	53.92
4	61.51	92.75	90.27	74.37	87.88
5	155	71.88	71.88	48.52	19.77
Promedio de la elongación de radículas: <b>66.7196</b>					