

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**



DOCUMENTO FINAL DE TESINA

“Guía técnica de industrialización de los procesos de recolección, reproducción y conservación de microorganismos eficientes en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador”

**Por
Mauricio André Martínez Rodríguez**

CIUDAD UNIVERSITARIA, SEPTIEMBRE DE 2022

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS
NATURALES Y MEDIO AMBIENTE**



DOCUMENTO FINAL DE TESINA

**Guía técnica de industrialización de los procesos de recolección,
reproducción y conservación de microorganismos eficientes en la
Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador**

Por

Mauricio André Martínez Rodríguez

**REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

LIC. M. Sc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

LIC. M. S.c. FRANCISCO ANTONIO ALARCÓN SANDOVAL

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO

DR. FRANCISCO LARA ASCENCIO

SECRETARIO

ING. AGR. M. Sc. BALMORE MARTÍNEZ SIERRA

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE

ING. MAECE. JOSE MAURICIO TEJADA ASCENCIO

ASESOR O DIRECTOR

M. Sc. Ph. D. ING MIGUEL ANGEL MARTINE HERNANDEZ

TRIBUNAL CALIFICADOR

M. Sc. Ph. D. ING MIGUEL ANGEL MARTINE HERNANDEZ

ING. MAECE. JOSE MAURICIO TEJADA ASCENCIO

ING. AGR. RIGOBERTO ANTONIO URIAS FERNANDEZ

**COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN
DEPARTAMENTO DE RECURSOS NATURALES Y MEDIO
AMBIENTE**

ING. AGR. M. Sc. NELSON BERNABE GRANADOS ALVARADO

Dedicatoria

Al divino creador, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer eh estado, por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico en primer lugar mi trabajo de investigación

A mi familia fuente de apoyo constante e incondicional en toda mi vida y más aún en los duros años de mi carrera profesional y en especial quiero expresar mi más grande agradecimiento a mis padres Aracely Auxiliadora Rodríguez León y Mauricio Ernesto Martínez Sáenz a mis abuelos, Melba Auxiliadora León de Rodríguez y Carlos Rafael Martínez Pleitez y por último a mi hermano Robin Alejandro Martínez Rodríguez ya que sin la ayuda de todos me hubiese sido imposible culminar mi profesión.

Agradecimientos

En este momento en que inicia una etapa importante de mi vida, quiero agradecer a Dios, a mi familia, excompañeros, amigos y al equipo Docente de la Facultad de Ciencias agrónomas de la Universidad de El Salvador, por ser parte en mis años de estudio y por las valiosas enseñanzas transmitidas.

Agradezco a mi ALMA MATER, por brindarme la oportunidad de coronar una carrera universitaria y estar mejor preparado para mi vida.

El agradecimiento sincero a mí tutor M. Sc. Ph. D. Ing. Agr. Miguel Ángel Martínez Hernández, por aceptar ser la guía para realizar esta tesina bajo su dirección, y apoyar durante la realización de la presente investigación.

1. Índice

Resumen.....	11
Abstract	12
I. Introducción.....	13
II.Planteamiento del Problema	14
III.Objetivos	15
3.2Objetivo general	15
3.3Objetivos específicos	15
IV.Estado del arte.....	16
V.Revisión Bibliográfica de la investigación.....	18
5.1 Microorganismos eficientes	18
5.2 Grupos microbiológicos que conforman los microorganismos eficientes.....	18
5.2.1 Bacterias fototróficas	18
5.2.2 Bacterias ácido lácticas	19
5.2.3 Levaduras	20
5.2.4 Actinomicetes.....	21
5.2.5Hongos fermentadores	22
5.3Tecnología de recolección.....	20
5.3.1¿Cómo se obtienen los microorganismos efectivos?.....	20
5.3.2¿Cómo se cosechan los Microorganismos efectivos?	21
5.4Tecnología de reproducción	22
5.4.1Medio solido	22
5.4.2Medio liquido	23
5.4.3 Microorganismos eficientes comerciales y Microorganismos eficientes naturales	23
5.5 Activación de los ME.....	24
5.6Modo de acción de los microorganismos eficientes.....	25
5.7Propiedades funcionales y aplicación agrícola de los grupos microbiológicos.....	26
5.7.1 Modo de uso de ME.....	26
5.7.2 Aplicaciones al suelo.....	26
5.7.3Aplicaciones al follaje.....	27
5.7.4Fijación del nitrógeno atmosférico.....	27
5.7.5Actividad pecuaria	28
5.7.6Tratamiento de excretas (Manejo Sanitario Preventivo)	30
5.7.7Agua de bebida para animales.....	31

5.7.8Acuicultura.....	32
5.7.9Tratamiento del suelo.....	32
5.8Tratamiento al agua (Aplicaciones y dosis)	33
5.8.1Aplicación en compost.....	33
5.8.2Manejo de residuos sólidos y orgánicos.....	34
5.9Tecnología de conservación de los microorganismos eficientes.....	34
5.9.1Consideraciones a tener en cuenta para la conservación de los microorganismoseficientes	35
5.9.2 Congelación y Liofilización	35
5.9.3 Resiembra periódica.....	37
VI. Metodología.....	38
6.1Ubicación del estudio.....	38
6.2Fase de laboratorio	38
VII. Resultados.....	39
7.1 Recolección, reproducción y conservación de bacterias fototroficas.....	39
7.1.2 Procedimiento para la recolección de bacterias fototroficas	39
7.1.3 Procedimiento para la reproducción de bacterias fototroficas	39
7.1.4 Procedimiento para la conservación de bacterias fototroficas	40
7.2 Recolección, reproducción y conservación de bacterias ácido lácticas	41
7.2.1 Procedimiento para la recolección de bacterias ácido lácticas.....	41
7.2.2 Procedimiento para la reproducción de bacterias ácido lácticas	42
7.2.3 Procedimiento para la conservación de bacterias fototroficas	42
7.3 Recolección, reproducción y conservación de levaduras.....	42
7.3.1 Procedimiento para la recolección, reproducción y conservación de levaduras	43
7.3.2 Procedimiento para la conservación de levaduras.....	44
7.4 Procedimiento para la recolección y reproducción de actinomicetes.....	44
7.5 Recolección, reproducción y conservación de Hongos formadores de Micorrizas Arbusculares (HMA)....	47
7.5.1 Recolección.....	47
7.5.2 Aislamiento de Hongos formadores de Micorrizas	47
7.5.3 Preparación de la Solución de Sacarosa para la conservación	48
VIII.Conclusiones	50
IX. Bibliografía	51
X.Anexos.....	56

1. Índice de Cuadros

Cuadro 1:Frecuencia de aplicación de ME en suelo	26
Cuadro 2: Método y dosis de aplicación en aguas	31

2. Índice de Figuras

Figura 1. micorrizas vesiculares. (Feijoo 2016)	19
Figura 2. Bacterias fototróficas (Google imágenes)	19
Figura 3: Levaduras, microorganismos que ralentizan la fermentación. (Horwath 2017)	21
Figura 4: actinomicetes en medio de cultivo agar. (Vurukonda et al. 2018)	22
Figura 5: Trichoderma sp. (Yang et al, 2017)	19
Figura 6: Preparación de materiales para la reproducción de M.E. (Freitag, 2000)	21
Figura 7: Elaboración de M.E. medio sólido.	22
Figura 8: Elaboración de M.E. medio líquido.	23
Figura 9: Activación de los microorganismos eficientes. (INFOAGRO 2011)	25
Figura 10: Actividad simbiótica de los M.E. (Cardona 2001)	26
Figura 11: (KAKRALIYA 2018).	28
Figura 12: M.E. en las raciones de pollos de engorde (TOALOMBO R 2012).	29
Figura 13: Congelacion como técnica para conservar M.E. (Rhode 1995).	36
Figura 14: Preservación de M.E. por liofilización (Rhode 1995).	36
Figura 15: Resiembra periódica de M.E. (Floccari 1998).	37
Figura 16: Reproducción de bacterias fototroficas en medio de cultivo agar (Floccari 1998).	40
Figura 17: Conservación en incubadora de bacterias fototroficas. (Floccari 1998).	40
Figura 18: Congelación de bacterias fototroficas (Floccari 1998).	41
Figura 19: Sedimentos de levadura en cubo fermentador. (Gao 2019)	43
Figura 20: Mosto y levadura (Gao 2019)	43
Figura 21: Tarro de mosto con levaduras al fondo. (Gao 2019)	44
Figura 22: Aislamiento de actinomicetes. (Ramírez, L 2000)	45
Figura 23: Crecimiento de actinomicetos en medio de cultivo. (Ramírez, L 2000)	46

3. Índice de Anexos

Anexo 1:: Ponencia sobre productos orgánicos que contienen me impartida por AMER Consultores.....	56
Anexo 2: Producto Eficaz de AMER Consultores utilizad para la biorremediación del suelo.	56
Anexo 3: Productos orgánicos hechos con microorganismos eficientes de AMER Consultores.....	57

Resumen

El presente trabajo pretende sistematizar la información publicada en los últimos 10 años relacionada con los microorganismos eficientes (ME), sus métodos de recolección, reproducción y conservación, así como también sus propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. Se hizo una recopilación de información principalmente de publicaciones científicas sobre experiencias en la inoculación, tecnologías de reproducción, preservación, utilización y beneficios esperados de su aplicación. La investigación bibliográfica se desarrolló en Ciudad Universitaria “Dr. Fabio Castillo Figueroa”, final de AV. Martirer y héroes del 30 de julio, San Salvador, El Salvador AC. La investigación se realizó con el objetivo de describir basado en la literatura científica la importancia que los ME aportan al ámbito agrícola, agroindustrial y ambiental para tratar de disminuir o evitar el uso de sustancias nocivas para el medio ambiente ya que estos enriquecen los suelos y diversos procesos que contribuyen a mejorar los mismos, así como los cultivos, alimentación animal, en la industria en el control y reutilización de residuos agroindustriales entre otros. A su vez con el objetivo de tener una fuente de información para futuros profesionales que busquen incursionar en el tema.

Abstract

This paper aims to systematize the information published in the last 10 years related to efficient microorganisms (EM), their collection, reproduction and conservation methods, as well as their functional properties and agricultural applications. A compilation of information was made mainly from scientific publications on experiences in inoculation, reproduction technologies, use and benefits expected from its application. The bibliographic research began in Ciudad Universitaria “Dr. Fabio Castillo Figueroa”, end of AV. Martyr and heroes of July 30, San Salvador, El Salvador AC. The research was carried out with the objective of describing, based on the scientific literature, the importance that MEs bring to the agricultural, agro-industrial and environmental fields to try to reduce or avoid the use of substances that are harmful to the environment since they enrich the soils and various processes that contribute to improving them, as well as crops, animal feed, in the industry in the control and reuse of agro-industrial waste, among others. At the same time with the objective of having a source of information for future professionals who seek to venture into the subject.

I. Introducción

Los microorganismos eficientes o ME (del inglés Efficient Microorganism) consisten en productos formulados líquidos que contienen más de 80 especies, algunas especies son aeróbicas, anaeróbicas, e incluso especies fotosintéticas cuyo logro principal es que pueden coexistir como comunidades microbianas. Las producciones agrícolas limpias constituyen una prioridad en los programas de desarrollo de varios países. Los microorganismos eficientes (ME) desde la década de los 80's gracias a las investigaciones del científico Teruo Higa, profesor de horticultura de la Universidad de Ryukyus en Okinawa, Japón han demostrado ser una alternativa eficiente y sostenible en la producción de alimentos (Hoyos et al. 2008).

Según Quevedo J, 2018. establece que los ME agrupan una gran diversidad microbiana que agrupan: bacterias ácido-lácticas, bacterias fotosintéticas, levaduras, actinomicetes y hongos lamentosos con capacidad fermentativa. Desde el punto de vista agrícola los ME promueven la germinación de semillas, favorecen la aireación en los suelos, el crecimiento y desarrollo de los frutos y permiten una reproducción más exitosa en las plantas. Adicionalmente se ha demostrado que mejoran las propiedades de los suelos, incrementan la fertilidad química de los mismos y suprimen a varios agentes patógenos causantes de enfermedades en numerosos cultivos.

Desde el punto de vista fisiológico se ha determinado que los ME incrementan la capacidad fotosintética de los cultivos, así como su capacidad para absorber agua y nutrientes. Además, mejoran la calidad y reducen los tiempos de maduración de abonos orgánicos, en particular, el composteo. Todos estos aspectos explican el incremento del rendimiento agrícola y el amplio uso de los ME así como productos derivados de estos como los biofertilizantes y en el campo de la industrial en el manejo de los residuos o reutilización de estos entre otros. El presente trabajo pretende desarrollar y sintetizar parte de la información publicada en los últimos 10 años relacionada con los ME, sus propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas.

I. Planteamiento del Problema

La agricultura orgánica constituye una parte cada vez más importante del sector agrícola por sus ventajas ambientales y económicas, lo cual nos lleva a pensar que día a día más personas se dan cuenta de lo importante que es consumir alimentos sanos, libres de residuos que la agricultura convencional no les proporciona. De igual manera los agricultores ven que en un corto plazo sus sistemas tradicionales de cultivo serán cada vez menos sostenibles debido a su alta dependencia de insumos, por lo que la agricultura orgánica se presenta como una opción interesante, en la que sin embargo es fundamental una adecuada fertilidad del suelo para asegurar una producción de calidad.

En tal sentido, una alternativa para mejorar la fertilidad de los suelos en El Salvador pueden ser los Microorganismo Eficientes, los mismos que son un cultivo microbiano mixto, de especies seleccionadas de microorganismos benéficos, que inoculados al suelo contribuyen a restablecer el equilibrio microbiano, muchas veces deteriorado por las malas prácticas de manejo agronómico; estos a su vez contribuyen a acelerar la descomposición de los desechos orgánicos en el suelo, lo cual incrementa también la disponibilidad de nutrientes para las plantas.

II. Objetivos

3.2 Objetivo general

- Elaborar una guía técnica de industrialización sobre los procesos de recolección, reproducción y conservación de los microorganismos eficientes.

3.3 Objetivos específicos

- Definir un inventario de los grupos microbianos que los componen.
- Desarrollar las principales características, propiedades funcionales que desempeñan y sus aplicaciones como productos agrícolas.
- Analizar las tecnologías de recolección, reproducción y generalidades de conservación de estos.

III. Estado del arte

Son muchas investigaciones realizadas acerca de los ME, algunos han descrito una especie de forma específica, otros han utilizado mezclas de varias especies, a continuación, una reseña de las investigaciones hechas en este tema.

Evaluación de dos sistemas de compostaje con la acción de microorganismos eficientes en la planta agroindustrial UTE sede Santo Domingo

Se evaluó los sistemas de compostaje aeróbico y anaeróbico bajo la acción de microorganismos eficientes y autóctonos. Se desarrolló en la Granja Experimental de la Universidad Tecnológica Equinoccial, Escuela de Ingeniería Agropecuaria Campus Santo Domingo Arturo Ruiz Mora, con el fin de identificar el mejor sistema de compostaje para desechos orgánicos de la planta agroindustrial, a más de establecer la acción de los microorganismos en cada sistema de compostaje y analizar los productos y subproductos obtenidos; Se evaluó la variable tiempo de descomposición de la materia orgánica, así como fluctuaciones de temperatura durante la descomposición del compostaje, realizando un análisis de varianza y una comparación múltiple de medidas determinando que el sistema aeróbico es el que en menor tiempo realizó el proceso frente al anaeróbico, la acción de los microorganismos fue similar para los autóctonos y los eficientes, los lixiviados generados poseen cantidades de nutrientes y microorganismos por lo que resulta indispensable su manejo para evitar contaminación UTE (Universidad Tecnológica Equinoccial, Santo Domingo).

Manejo integrado del cultivo de banano, usando biocarbón y microorganismos eficientes

Según FAO El mercado internacional busca actualmente fruta de producción orgánica cuya carga química en su ciclo de cultivo sea mínima y no altere su valor nutricional. En este trabajo se estudió el efecto de implementar el uso del biocarbón en conjunto con los microorganismos eficientes (ME) para mejorar la calidad fitosanitaria del cultivo de banano, y reducir la carga química en el control de Sigatoka negra a cero ciclos de fumigación, brindando una alternativa segura para la sostenibilidad, calidad y salud del medio ambiente mediante la aplicación del manejo integrado del cultivo (QuevedoJ 2018).

Elaboración de abono orgánico con residuos domésticos de alimentos y tratados con microorganismos eficientes

En la investigación se demostró que los RDA (residuos domésticos de alimentos) separados y tratados en sitio con microorganismos eficientes se disminuye el olor generado por gases mezclados con zeolita para disminuir la toxicidad y realizando análisis sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos (Tolentino G 2020).

Experiencia en AMER Consultores de El Salvador.

AMER consultores es una empresa privada dedicada a la producción agropecuaria con enfoque de sostenibilidad, siendo una de las tecnologías aplicadas en sus procesos la aplicación de microorganismos eficientes basados en la aplicación de varias especies entre ellas *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Rhodopseudomonas* comunicación personal con AMER Consultores.

Proceso de reproducción de bacterias fototróficas mediante bio fermentación

Este trabajo consistió en la elaboración y producción de un biofertilizante utilizando como ingrediente principal a las bacterias fototróficas (actinomicetos, bacterias fototróficas y bacterias lácticas), para ello se recolectó material vegetal en estado de descomposición (hojarasca de árboles), en los predios de la FACIAG, y luego a través de la bio fermentación se logró fabricar el biofertilizante (Mendoza L 2019).

V. Revisión Bibliográfica de la investigación

5.1 Microorganismos eficientes

ME significa microorganismos eficientes. Su concepto y tecnología fue desarrollado por el Doctor Teruo Higa en la Universidad de Ryukyus, Okinawa, Japón, y el estudio se completó en 1982. El principio fundamental de esta tecnología fue la introducción de un grupo de microorganismos benéficos para mejorar las condiciones del suelo, suprimir putrefacción (incluyendo enfermedades) microbios y mejorar la eficacia del uso de la materia orgánica por las plantas. Investigaciones muestran que la inoculación de cultivos de ME al ecosistema del suelo/planta mejora la calidad y salud del suelo, y el crecimiento, producción, calidad de los productos (Chávez 2017).

5.2 Grupos microbiológicos que conforman los microorganismos eficientes

Los Microorganismos Eficientes son una combinación de microorganismos beneficiosos de cuatro géneros principales: Bacterias fototróficas, levaduras, bacterias productoras de ácido láctico y hongos de fermentación. Estos microorganismos efectivos cuando entran en contacto con materia orgánica secretan sustancias beneficiosas como vitaminas, ácidos orgánicos, minerales quelatados y fundamentalmente sustancias antioxidantes. Además, mediante su acción cambian el micro y macro flora de los suelos y mejoran el equilibrio natural, de manera que los suelos causantes de enfermedades se conviertan en suelos supresores de enfermedades, y ésta se transforme a su vez en tierra. (Horwath 2017).

5.2.1 Bacterias fototróficas

Las bacterias fototróficas son un grupo de microbios independientes y autosuficientes. Estas bacterias sintetizan sustancias útiles de secreciones de raíces, materia orgánica y/o gases dañinos (ej: ácido sulfhídrico) con el uso de luz solar y calor del suelo como fuentes de energía. Estas sustancias útiles incluyen aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares, los cuales promueven crecimiento y desarrollo de la planta (Feijoo2016).

Los metabolitos hechos por estos microorganismos son absorbidos directamente por las plantas y actúan como sustrato para el incremento poblacional de microorganismos benéficos. Por ejemplo, en la rizósfera las micorrizas vesiculares, arbuscular (VA) se incrementan gracias a la disponibilidad de compuestos nitrogenados (aminoácidos) que son secretados por las bacterias fototróficas. Las micorrizas VA en respuesta incrementa la solubilidad de fosfatos en el suelo y por ello otorgan fósforo

que no era disponible a las plantas. Las micorrizas VA también pueden coexistir con azobacter y rizobiums, incrementando la capacidad de las plantas para fijar nitrógeno de la atmósfera (Feijoo 2016).



Figura 1. micorrizas vesiculares. (Feijoo 2016)

5.2.2 Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas son un grupo de microorganismos representadas por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general las BAL son cocos o bacilos gran positivos, no esporulados, no móviles, anaeróbicos, microaerófilos o aerotolerantes. Las bacterias ácido lácticas tienen la habilidad de suprimir enfermedades incluyendo microorganismos como fusarium, que aparecen en programas de cultivos continuos. El uso de bacterias ácido lácticas reducen las poblaciones de nemátodos y controla la propagación y dispersión de fusarium, y gracias a ello induce un mejor ambiente para el crecimiento de los cultivos (Torres et al 2015).

Son microorganismos que tienen diversas aplicaciones, siendo una de las principales la fermentación de alimentos como la leche, carne y vegetales para obtener productos como el yogur, quesos, encurtidos, embutidos, ensilados, bebidas y cervezas, entre otros. Son cocos o bacilos Gram positivos, no esporulados, no móviles, anaeróbicos, microaerófilos o aerotolerantes; oxidasa, catalasa y benzidina negativas, carecen de citocromos, no reducen el nitrato a nitrito y producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación de carbohidratos. Además, las BAL son ácido tolerante pudiendo crecer algunas a valores de pH tan bajos como 3, 2; otras a valores tan altos como 9,6; y la mayoría crece a pH entre 4 y 4,5. Estas características le permiten sobrevivir naturalmente en

medios donde otras bacterias no lograrían sobrevivir. Este grupo de bacterias incluye géneros como *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. casei*) *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* (*S. lactis*) y *Pediococcus*, que pueden ser aisladas a partir de alimentos fermentados, masas ácidas, bebidas, plantas y los tractos respiratorio, intestinal y vaginal de animales homeotérmicos entre otros (Torres et al 2015).



Figura 2: *Lactobacillus* spp. (Torres et al 2015)

5.2.3 Levaduras

Levadura es un nombre genérico que agrupa a una variedad de organismos unicelulares, incluyendo especies patógenas para plantas y animales, así como especies no solamente inocuas sino de gran utilidad. Las levaduras han sido utilizadas, desde la antigüedad, en la elaboración de cervezas, pan y vino, pero los fundamentos científicos de su cultivo y uso en grandes cantidades fueron descubiertas por el microbiólogo francés Louis Pasteur en el siglo XIX (Horwath 2017).

Las levaduras son organismos eucariotas con gran diversidad respecto a su tamaño, forma y color. Son consideradas hongos unicelulares y generalmente sus células son ovaladas, pero también pueden encontrarse en forma esférica, cilíndrica o elíptica. Son mayores que las bacterias, alcanzando un diámetro máximo de entre cuatro y cinco μm . Se reproducen por fisión binaria o gemación y algunas pueden ser dimórficas o bifásicas y crecen como micelio bajo condiciones ambientales especiales. Son resistentes a antibióticos, sulfamidas y otros agentes antibacterianos de forma natural. Se conoce la secuencia completa de su genoma y se mantiene en constante revisión, lo que ha permitido la manipulación genética de los casi 6600 genes que codifican el genoma de levadura (Meena 2017).

Son un grupo microbiano presente en la preparación de los ME capaces de utilizar diversas fuentes de carbono (glucosa, sacarosa, fructosa, galactosa, maltosa, suero hidrolizado y alcohol) y de energía. Varias especies del género *Saccharomyces* conforman esta comunidad microbiana, aunque prevalece las especies *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida utilis*. Estos microorganismos requieren como fuente de nitrógeno el amoníaco, la urea o sales de amonio y mezcla de aminoácidos. No son capaces de asimilar nitratos ni nitritos. Otros nutrientes requeridos por estos microorganismos es el fósforo que se puede administrar en forma de ácido fosfórico, magnesio (sulfato de magnesio), el calcio, el hierro, el cobre, el zinc, vitaminas del complejo B. Las levaduras sintetizan sustancias antimicrobianas a partir de azúcares y de aminoácidos secretados por bacterias fotosintéticas. Producen hormonas y enzimas que pueden ser utilizadas por las BAL. Como parte de su metabolismo fermentativo producen etanol el cual en elevadas concentraciones puede tener actividad antifúngica (Meena 2017).



Figura 3: Levaduras, microorganismos que ralentizan la fermentación. (Horwath 2017)

5.2.4 Actinomicetes

Los actinomicetos son bacterias filamentosas con cierta similitud con los hongos. El crecimiento consiste en un micelio ramificado que tiende a fragmentarse en elementos bacterianos. Muchos actinomicetos son de vida libre, particularmente en el suelo. Se destacan por su papel principal en la solubilización de la pared celular o componentes de las plantas, hongos e insectos. Por ello tienen gran importancia en el compostaje y en la formación de suelos. Algunas especies de actinomicetes pueden ser endófitos en tejidos vegetales (Vurukonda et al. 2018).

Como componentes de ME *Streptomyce albus* y *Streptomyces griseus* son las principales especies de actinomicetes informadas. Varias especies de actinomicetos, principalmente las que pertenecen al género *Streptomyces*, son excelentes agentes de control biológico debido a su amplio repertorio para producir compuestos antifúngicos que inhiben el crecimiento micelial de varios hongos fitopatógenos. La actividad antagonista de *Streptomyces* contra hongos patógenos generalmente está relacionada con la producción de compuestos antifúngicos como: enzimas hidrolíticas extracelulares, se consideran enzimas hidrolíticas importantes en la lisis de las paredes celulares de *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Sclerotinia minor* Jagger y *Sclerotium rolfsii* Sacc (Vurukonda et al. 2018).



Figura 4: actinomicetes en medio de cultivo agar. (Vurukonda et al. 2018)

5.2.5 Hongos fermentadores

Los hongos contribuyen con los procesos de mineralización del carbono orgánico del suelo; además una gran cantidad de los hongos son antagónicos de especies fitopatógenas. Por otro lado, los hongos poseen la capacidad de reproducirse tanto sexual como asexualmente, en donde la segunda les permite multiplicarse de forma rápida bajo condiciones favorables (sustratos ácidos y ricos en carbono) y la sexual (esporas) es más común bajo condiciones desfavorables. Los hongos poseen requerimientos relativamente bajos de nitrógeno, lo cual les brinda una ventaja competitiva en la descomposición de materiales como la paja y la madera (Yang et al. 2017).

Dentro de los principales representantes de estos hongos encontramos a las siguientes especies: *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn, *Penicillium* sp, *Trichoderma* sp y *Mucorhiemalis* Wehmer. *A. oryzae* es un hongo microscópico, aeróbico y filamentoso. Esta especie ha sido utilizada milenariamente en la cocina china, japonesa y de otros países de Asia Oriental especialmente para fermentar soja y arroz, aunque también se refiere actividad celulítica. Varias especies del género *Penicillium* son excelentes degradadores de lignina y celulosa, muy comunes en los ecosistemas tropicales por su capacidad de secretar enzimas extracelulares, su adaptación a ambientes ácidos, y al estrés hídrico, su rápido crecimiento (Yang et al, 2017).

Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* sp. Se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica, los cuales son capaces de descomponerla y en determinadas condiciones pueden ser anaerobios facultativos, lo que les permite mostrar una mayor plasticidad ecológica. Las especies de *Trichoderma* se encuentran presentes en todas las latitudes, desde las zonas polares hasta la ecuatorial. Esta distribución tan amplia y su plasticidad ecológica están estrechamente relacionadas con la alta capacidad enzimática que poseen para degradar sustratos, un metabolismo versátil y resistencia a inhibidores microbianos. Las especies de *Trichoderma* pueden ejercer diferentes mecanismos biocontroladores como: competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo, la antibiosis y la inducción de resistencia (Yang et al, 2017).



Figura 5: *Trichoderma* sp. (Yang et al, 2017)

5.3 Tecnología de recolección

Los ME se pueden obtener o cultivar de dos maneras. La primera es en forma líquida, los Microorganismos Efectivos se hacen crecer en una solución con un pH de 3.5, que se obtiene bajo un tratamiento a alta presión por la interacción de un grupo muy diverso de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos que se encuentran en el medio ambiente en forma natural. Ellos incluyen altas concentraciones de bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus* y *Pedicoccus*), levaduras (*Sacaromicetes*) y menores concentraciones de bacterias fotosintéticas, actinomicetes y otros organismos naturales (Guim et al., 1995)

La segunda es en forma sólida (el medio de cultivo es la hojarasca de bosque) y consiste en una mezcla simbiótica de microorganismos encontrados en suelos poco alterados, como la montaña. Los primeros grupos activos son un grupo de bacterias fotosintéticas, las cuales cuando se alimentan de una dieta simple de melaza y humedad, producen un lixiviado de un alto poder nutritivo. El principio básico es que cuando los ME se introducen dentro de un ambiente de biodegradación anaerobia, ellos rápidamente degradan la contaminación metanógena y tóxica, Ambas formas de aplicación de los Microorganismos Eficientes pueden acelerar el proceso de descomposición de los desperdicios de cocina (Freitag, 2000)

5.3.1 ¿Cómo se obtienen los microorganismos efectivos?

Materiales:

1. Frasco de plástico (como los de yogurt de 1 litro) 120 gm. de arroz cocido
2. 1 pedazo de tela de algodón
3. 1 liga

Procedimiento

1. Poner el arroz cocido dentro del recipiente de plástico.
2. Tapar la boca del recipiente con el pedazo de tela de algodón y asegúrelo bien con la liga.
3. Enterrar el recipiente junto a un talud húmedo, poniendo sobre él materia orgánica semi descompuesta.

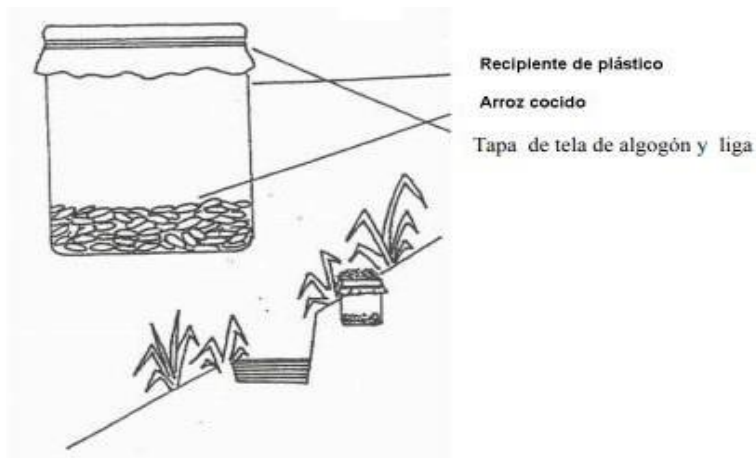


Figura 6: Preparación de materiales para la reproducción de M.E.
(Freitag, 2000)

5.3.2 ¿Cómo se cosechan los Microorganismos efectivos?

1. Después de 2 semanas se desentierra el recipiente y se saca el arroz que estará impregnado de microorganismos descomponedores de la materia orgánica.
2. Se licua el arroz se mezcla en una solución a base de 1 litro de melaza y tres litros de agua pura y fresca (solución madre).

Algunos recomiendan para potencializar los microorganismos benéficos, ponerle un puñado de tierra de la capa superficial y orgánica de suelo de un ecosistema natural donde no haya habido intervención (suelo de montaña) y se sumerge en la solución en una media panty de mujer, como si fuera una bolsa de té (Freitag 2000).

Después de pasado ese tiempo se debe colar, para luego usar.

- Dosis agrícolas: un litro por bomba de 16 litros.
- Dosis como abono foliar: 1 cc en un litro de agua cada 15 días.

5.4 Tecnología de reproducción

Luego de haber recolectado los microorganismos eficientes (ME) se procede a la reproducción, en medio sólido y posteriormente en medio líquido.

5.4.1 Medio sólido

Materiales para preparar 5 quintales de Microorganismos eficientes en medio sólido.

3-Quintales de Microorganismos eficientes previamente recolectados.

2-Quintales de semolina de arroz. (pulimento), harina de maíz o sorgo.

2-Galones de melaza

1-Barril plástico de 200 litros de capacidad, con tapadera y cincho metálico

1-Pala

1-Regadera

1-Mazo de madera

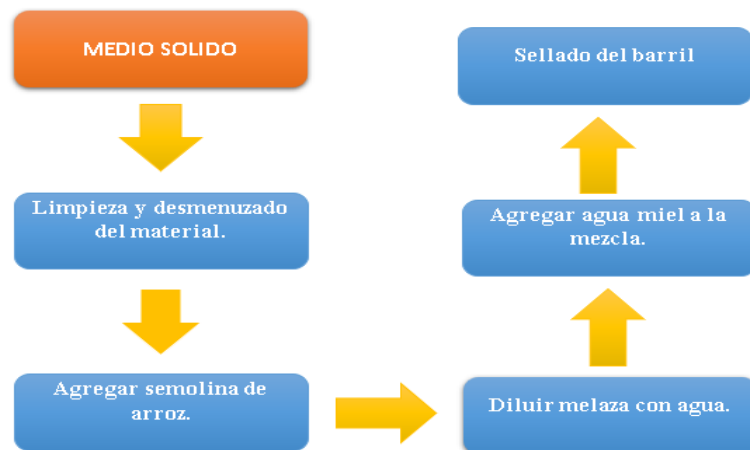


Figura 7:Elaboración de M.E. medio sólido.

5.4.2 Medio líquido

La reproducción de microorganismos de montaña en medio líquido se realiza para incrementar la cantidad de microorganismos benéficos reproducidos en medio sólido.

Materiales y equipo, para preparar 180 litros de microorganismos líquidos (MML).

12 libras de microorganismos sólidos 1 galón de melaza

180 litros de agua sin cloro

1 barril plástico de 200 litros de capacidad, con tapadera y cincho metálico. 1 saco de manta o sintético.

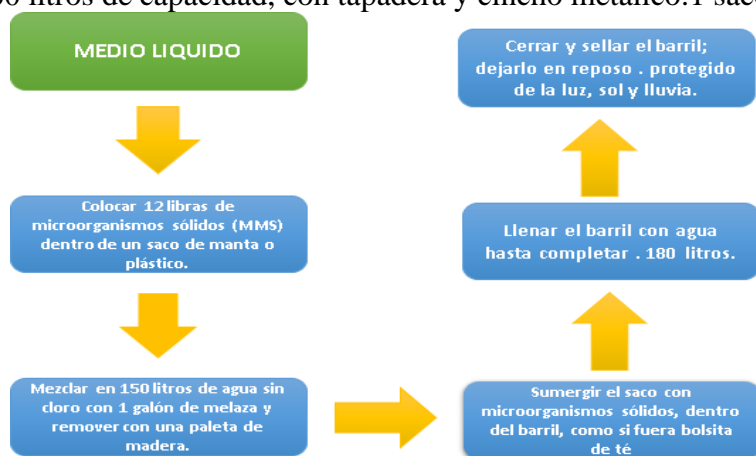


Figura 8:Elaboración de M.E. medio líquido.

5.4.3 Microorganismos eficientes comerciales y Microorganismos eficientes naturales

Según Hoyos et al. 2008, los microorganismos eficientes comerciales o MEC consisten en productos formulados que pueden contener una o varias especies de microorganismos, algunas especies son aeróbicas, anaeróbicas e incluso especies fotosintéticas cuyo logro principal es que pueden coexistir como comunidades microbianas e incluso pueden completarse. La distribución de estos productos puede ser en estado líquido o sólido (en polvo).

La composición de estos productos dependerá según las necesidades de los compradores pues según Feijoo (2016) los MEC han mostrado efectos beneficiosos para el tratamiento de aguas negras, reducción de malos olores, en la producción de alimentos libres de agroquímicos, el manejo de desechos sólidos y líquidos generados por la producción agropecuaria, la industria de procesamiento de alimentos, fábricas de papel, mataderos y municipalidades, entre otros.

En El Salvador no existen muchas empresas que se dediquen a la producción, maquinación, venta y distribución de estos productos. Una de las pocas empresas que elaboran y distribuyen estos tipos de insumos, es AMER CONSULTORES S.A de C.V quienes han incorporado ME en la formulación de sus productos estrella EFICAZ, el cual utiliza los microorganismos como inoculante microbiano, reestablece el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus condiciones fisicoquímicas, incrementando la producción de los cultivos y su protección, generando agricultura sostenible (AMER CONSULTORES S.A de C.V. 2021)

5.5 Activación de los ME

El EM tiene varias expresiones, por ejemplo; ME Solución Madre, ME Original, ME Básico, ME Concentrado etc, son diferentes nombres para el mismo producto, pero, está uniformando su nombre solo ME-1. Y él ME-1 viene únicamente en forma líquida y contiene microorganismos útiles y seguros: Bacterias ácido-lácticas 104, Bacterias fototróficas 103, Levaduras 103. (INFOAGRO 2011).

El ME-1 está en estado latente (inactivo), para conservar a largo plazo, por lo tanto, antes de usarlo, hay que activarlo, quiere decir “productos secundarios” de ME. (ME Activado = MEA) El cual puede obtener mayor población de microorganismos benéficos y también puede minimizar el costo. ME Activado consiste en 5% de ME-1 y 5% de melaza diluidos en 90% de agua limpia en un recipiente herméticamente cerrado. Se deja para que se fermente durante una o dos semanas. Un olor agridulcey un pH 3.5 o menos indican que el proceso de activación está completo. Y la activación es solo una vez, si lo hace más, se pierde equilibrio de los microorganismos, por lo tanto, no hay garantía sobre su calidad y función. También debe usar los mismos materiales y volumen mencionado, si no afectará su calidad. La calidad de MEA es muy importante y si activa con mala calidad, no trabaja ni actúa bacterias en el sitio. Por Lo que es mejor consulte a un distribuidor autorizado antes de activación y revise después de activación sobre su calidad cada activación (INFOAGRO 2011).

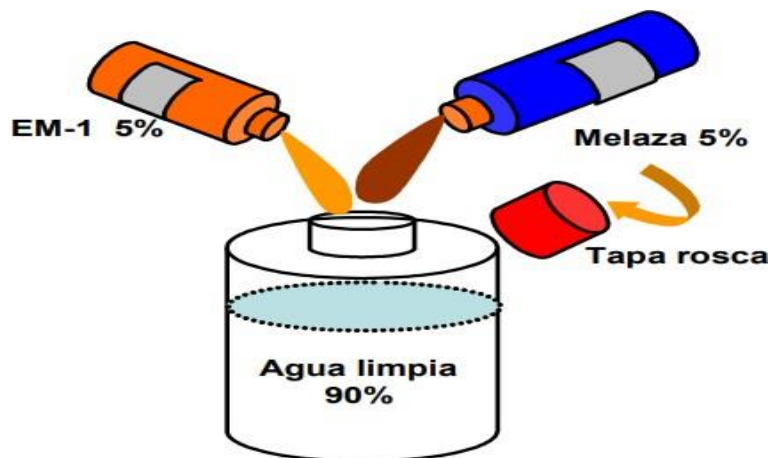


Figura 9: Activación de los microorganismos eficientes. (INFOAGRO 2011)

Durante una o dos semanas. Un olor agridulce y un pH 3.5 o menos indica que el proceso de activación está completo. Y la activación es solo una vez, si lo hace más, se pierde equilibrio de los microorganismos, por lo tanto, no hay garantía sobre su calidad y función. también debe usar el mismo materiales y volumen mencionado, si no afectará a su calidad. La calidad de MEA es muy importante y si activa con mala calidad, no trabaja ni actúa en el sitio. Por lo que es mejor consulte a un distribuidor autorizado antes de activación y revise después sobre su calidad cada activación (NELE et al 2009).

5.6 Modo de acción de los microorganismos eficientes

Cardona (2001), manifiesta que los microorganismos eficientes actúan de manera que toman sustancias generadas por otros organismos basando en ello su funcionamiento y desarrollo. Las raíces de las plantas secretan sustancias que son utilizadas por los microorganismos eficientes para crecer, sintetizando aminoácidos, ácidos nucleicos, vitaminas, hormonas y otras sustancias bioactivas.

EEAITAJ (2009), expresa que a través de los efectos antioxidantes promueven la descomposición de la materia orgánica y aumentan el contenido de humus. Los efectos antioxidantes de estos microorganismos pasan directamente al suelo e indirectamente a las plantas, manteniendo así la proporción de NPK y CN. Este proceso aumenta el humus contenido en el suelo, siendo capaz de mantener una elevada calidad de la producción.

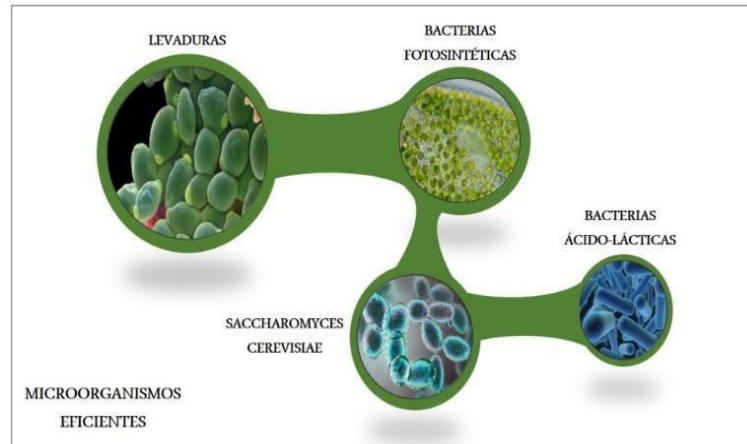


Figura 10: Actividad simbiótica de los M.E. (Cardona 2001)

5.7 Propiedades funcionales y aplicación agrícola de los grupos microbiológicos

5.7.1 Modo de uso de ME: La utilización de los microorganismos eficaces ME en el mantenimiento de cultivos puede darse mediante aplicaciones directas al suelo o al follaje (INFOAGRO 2011).

5.7.2 Aplicaciones al suelo: Las aplicaciones de ME al suelo, dependen del tipo del cultivo, de tal manera se pueden clasificar las aplicaciones de ME de la siguiente manera:

Cuadro 2: Frecuencia de aplicación de ME en suelo (INFOAGRO 2011)

Tipo de cultivo	EM/ha	Dilución	Frecuencia de aplicación
Ciclo Corto	20	2%-5%	8-15 días
Semipermanente	20	2%	15 días
Permanentes	30	5%	30 días

Es importante tener en cuenta, a la hora de la aplicación de microorganismos al suelo:

1. Aplicar a primera hora en la mañana antes de las 8:00 a.m., o en la tarde, después de las 4:00 p.m.
2. Dirigir las aplicaciones al área de la rizosfera, el área de mayor volumen de raíces de la planta.
3. Regar con abundante agua durante o después de la inoculación con - 33 - microorganismos (a capacidad de campo).

Al utilizar ME en el suelo es necesaria la incorporación de alguna enmienda orgánica de buena calidad ya que los microorganismos consumen la materia orgánica presente en el suelo disminuyendo su contenido, y este componente es la principal fuente de alimento para el desarrollo y establecimiento de los microorganismos que están siendo aplicados. La cantidad y frecuencia de aplicación de las enmiendas dependerá del contenido inicial de materia orgánica del suelo y del tipo de cultivo que se esté desarrollando (INFOAGRO 2011).

5.7.3 Aplicaciones al follaje

Para aplicar ME al follaje es importante tener en cuenta: 1. Realizar una dilución de ME en agua un 2%, es decir, 1 parte de ME A por 50 partes de agua, y según especie de cultivo, su condición de la presentación de la enfermedad y plaga puede variar. 2. La dosis (es mejor consultar un profesional cercano). Por ejemplo: en caso de cultivo de Banano se aplica una dosis de 10% para controlar Sigatoka Negra y cultivo de cacao se usa dilución de 50% contra bacteria patógena. 3. Aplicar en una fina aspersión al follaje de las plantas, preferiblemente en las horas de la mañana, antes de las 8:00 a.m., o en la tarde, después de las 4:00 p.m. 4. La frecuencia de aplicación de ME al follaje depende de la intensidad del cultivo, ligado a su frecuencia de cosecha. De esa manera se puede aplicar ME al follaje de la siguiente manera (INFOAGRO 2011).

5.7.4 Fijación del nitrógeno atmosférico

Por fijación de nitrógeno se entiende la combinación de nitrógeno molecular o de nitrógeno con oxígeno o hidrógeno para dar óxidos o amonio que pueden incorporarse a la biosfera. La reducción de nitrógeno a amonio llevada a cabo por bacterias de vida libre o en simbiosis con algunas especies vegetales (leguminosas y algunas leñosas no leguminosas), se conoce como fijación biológica de nitrógeno (FBN). Dentro de este consorcio de microorganismos fijadores de nitrógenos encontramos dos grandes grupos: el primero representados por bacterias simbióticas y el segundo por bacterias de vida libre. Las principales especies del género *Rhizobium*, bacterias simbióticas que producen nódulos en diferentes especies de leguminosas, se encuentran: *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium fredii*, *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium galegae*, *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii* y *Azorhizobium caulinodans* (TOALOMBO R 2012).

Descomposición de residuos orgánicos. El proceso de compostaje se basa en la actividad de microorganismos que habitan en el entorno natural. Ellos son quienes descomponen la materia orgánica. Para que estos microorganismos puedan desarrollar una óptima actividad de

descomposición se requieren (52 ° - 65 °C, contenido de humedad entre el 30 - 45 %). El compost tiene su origen a partir de residuos vegetales y animales (TOALOMBO R 2012).

5.7.5 Actividad pecuaria

La multiplicidad de usos de ME en la industria animal, lo hace un producto invaluable en su aplicación, ya que la tecnología que ofrece está compuesta de microorganismos naturales, no alterados genéticamente, que hacen que el proceso de producción se vuelva más limpio y eficiente desde un punto de vista económico, social y ambiental (KAKRALIYA 2018).

El ME se ha convertido en una gran herramienta para las unidades de producción animal gracias a sus efectos como probiótico, antígeno y sanitizador. La tecnología ME utilizada en pecuaria se basa en tres pasos: en el agua para beber, alimentación y aplicación en las instalaciones (KAKRALIYA 2018).

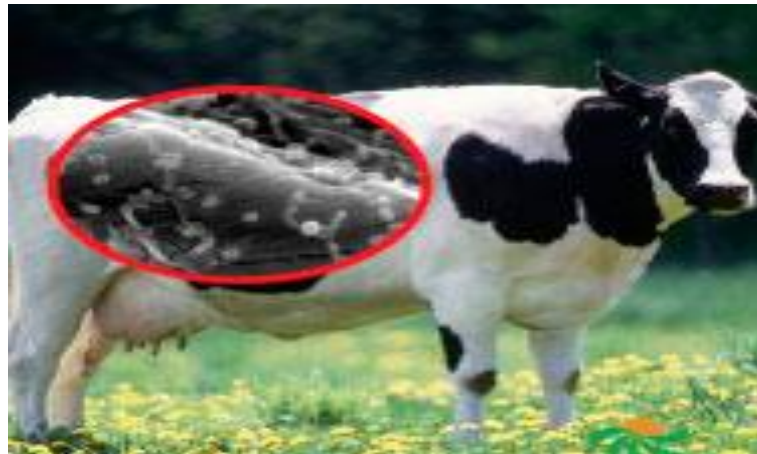


Figura 11:(KAKRALIYA 2018).

AVICULTURA. La aplicación del ME para avícola está enfocada en los siguientes puntos:

- La reducción de malos olores y población de ascas
- El mejoramiento de sanitario y de salubridad en general de las aves
- Producción alta calidad y mejora el rendimiento
- Ayuda en la utilización más eficiente del desecho animal menos malos olores
- Reducción de costo de productos químicos
- Logro de manejo forma sostenible y amigable para medio ambiente

Por medio de la fermentación de componentes dietarios, ME mejora la disponibilidad de nutrientes (aminoácidos) de los materiales y hace más eficiente la nutrición de los animales. Una porción de concentrado comercial fermentado con ME en la ración total de los animales, mejora sustancialmente los índices productivos de las aves y otros animales también (TOALOMBO R 2012).



Figura 12: M.E. en las raciones de pollos de engorde (TOALOMBO R 2012).

Fermentación de concentrados Adicionar ME como inóculo potenciador en la fermentación(anaerobia) de los concentrados o materiales orgánicas adecuadas para el alimento. Dosis: 1 Litro de ME y 10 Kg. de concentrado u otra materia orgánica (como se molina de arroz, trigo o soya). El agua puede agregar hasta que sea buen humedad de materia orgánica (máximo 30%).

Procedimiento:

- Extienda el concentrado comercial sobre una superficie limpia, preferiblemente plástica.
- Aplique ME líquido sobre el concentrado, mezcle homogéneamente y el agua puede agregar hasta llegar la humedad 20 al 30%.
- Empaque el material en una bolsa plástica o un recipiente que pueda cerrar herméticamente.
- Extraiga el aire del interior de la bolsa o recipiente, ya sea con presión manual o con aspiradora. Cierre bien la bolsa o recipiente para evitar el ingreso de aire.
- Deje fermentar el concentrado en la bolsa o recipiente por lo menos durante 15 días en un lugar oscuro, o dentro de una bolsa negra, preferiblemente a una temperatura entre 20 y 28° C (no es adecuada más de 35° C).
- Una vez el concentrado haya desarrollado un agradable olor a fermentación alcohólica, puede suministrarse hasta en un 3% de la ración diaria.

5.7.6 Tratamiento de excretas (Manejo Sanitario Preventivo)

Las aspersiones a la cama buscan establecer las poblaciones de microorganismos benéficos en las excretas, impidiendo la proliferación de otros microorganismos que pudren la materia orgánica. De esta manera, ME por fermentación del material reduce la generación de malos olores y la presencia de insectos plaga. La multiplicidad de usos de ME en la industria animal, lo hace un producto invaluable en su aplicación, ya que la tecnología que ofrece está compuesta de microorganismos naturales, no alterados genéticamente, que hacen que el proceso de producción se vuelva más limpio y eficiente desde un punto de vista económico, social y ambiental (Villegas 2017).

Laguna de Oxidación

Al aplicar ME en las lagunas de oxidación, los microorganismos benéficos comienzan a poblar el lugar, reduciendo la cantidad de microorganismos perjudiciales de una forma progresiva. Los efectos positivos de esta acción no se verán en forma inmediata, sino con el tiempo, puesto que el tratamiento

es de tipo biológico. Los efectos de la aplicación del ME en el tratamiento de aguas servidas (lagunas de oxidación):

1. Reducir los malos olores (como el amoniaco, el ácido sulfhídrico y el metilmercaptano entre otros).
2. Reducción de lodos(sedimentos) y microorganismos patógenos como Coliformes
3. Mejoramientos de la calidad de agua como DBO×1, DQO×2, Turbidez

Aplicación: Antes de aplicación de ME se necesita los siguientes datos que serían requisitos para calcular la dosis.

- Volumen de agua usado por día o volumen de caudal de la laguna
- DBO×1 y DQO×2 de caudal y final (salida final)
- La capacidad total de laguna.
- DBO×1: DBO (Demanda Biológica de Oxígeno) DQO (Demanda química de Oxígeno).

Cuadro 2: Método y dosis de aplicación en aguas (Villegas 2017)

Tratamiento	Dosis	Frecuencia	Lugar de aplicación
Tratamiento de choque	1Litro de EM [®] /m3 de Agua de laguna	Una vez por cada Trimestre	Primera laguna o todas lagunas
Tratamiento de mantenimiento	1Litro de EM [®] /m3 de Agua caudal	Diaria	Entrada del agua al sistema

5.7.7 Agua de bebida para animales

En el agua de bebida la utilización de ME ayuda a mejorar microbiológicamente la calidad de esta, además de enriquecerla con sustancias benéficas (aminoácidos, vitaminas, minerales, etc.). De otro lado, ME incrementa la digestibilidad y asimilación de nutrientes, debido a que dos de sus microorganismos (*Lactobacillus* sp. y *Saccharomyces* sp.), se han usado con éxito como probióticos en alimentación animal. Además de esto al hacer más eficiente el proceso digestivo y ruminal, ME ayuda a reducir la producción de gases nocivos (gas metano) desde el intestino mismo (Villegas 2017).

5.7.8 Acuicultura

El ME se ha desarrollado como una herramienta para las unidades de producción de camarón, gracias a sus efectos como probiótico, antígeno y sanitizador (Villegas 2017).

La tecnología de ME utilizada en camaronera se basa en tres pasos:

- En el agua de estanque
 - Alimentación
 - Aplicación en el piso de estanque
-
- Los efectos por el uso de ME en los siguientes puntos: Los principales beneficios de la aplicación de ME en la producción de camarones son:
 - Mejoramiento de la calidad de agua, tales como turbidez, oxígeno disueltos, reducción de elementos nocivos etc., y puede minimizar el recambio de agua.
 - Reducción de materia orgánica sedimentados, el cual causa generación de gas ofensivos, reducción de oxígenos etc., que afecta a camarones.
 - reducción de macroorganismos patógenos en agua y suelo.
 - Disminución del uso de antibióticos, cal y productos químicos.
 - Mejoramiento de inmunidad de camarón contra enfermedad y más sobrevivencia
 - Aumenta rendimiento(cosecha) y densidad de siembra.
 - Reducción del tiempo de producción y más peso.
 - Inoculación al alimento y eso funciona como probiótico (mejoramiento de flora intestinal y digestión), a la vez mejora conversión-alimenticia.
 - Puede producir camarón más limpio, saludable y sostenible para eliminar impacto del medio ambiente.
 - Perfectamente puede usar al laboratorio de cría de larvas para mejoramiento de salud de las larvas

5.7.9 Tratamiento del suelo

La aplicación de ME mejora las condiciones de suelo de estanques, puede eliminar los lodos de sedimentos por alimento no utilizados y a la vez reduce las sustancias y gases ofensivos por putrefacción, mejora microflora y establece buen equilibrio de biodiversidad etc. Y el uso de ME

beneficia mejoramiento de sobrevivencia, rendimiento de producto, minimiza impacto de la enfermedad y aumenta la capacidad inmunológica del camarón etc, por lo que es muy importante hacer el tratamiento con ME al suelo (Villegas 2017).

Aplicación: Aplicación de ME para suelo(fondos), debe ser por medio de BOKASHI anaeróbico, el cual es el mismo método de preparación de Bokashi para el alimento animales (mencionado en Avicultura) y los ingredientes recomendables son semolina de arroz, afrecho de trigo, torta o harina de soja, o puede ser otros desechos que se encuentra en alrededor cercana. Esta manera puede ayudar para suministrar sustratos con buena calidad y saludable para camarones (Villegas, 2017)

5.8 Tratamiento al agua (Aplicaciones y dosis)

Tratamiento al agua (Inoculación primaria)

Llenado y preparación previa a la siembra (Estimado en 5 días)

- Durante el proceso de llenado, se realiza una aplicación líquida de MEA, diaria, a razón de 100 Lt/Ha desde el día en el cual se inicia el llenado. La cantidad requerido para esta fase es de 500 lt / Ha.
- La activación de ME, será recomendable consultar a un distribuidor cercano.

Tratamiento de agua (Inoculación para mantenimiento)

Adición al sistema (Día 1 a 120)

- Partiendo de la siembra, se realiza un proceso diario de aplicación a las piscinas de MEA, entre 100 Lt al 200 lt/Ha/Día.

5.8.1 Aplicación en compost

Los objetivos principales del uso de ME® para compost son:

Inocular y activar a los microorganismos benéficos al suelo atreves de materia orgánica compostada

- 5.8.1.1 Reduciendo el tiempo de compostaje
- 5.8.1.2 Reducción de la generación de olores ofensivos e insectos nocivos
- 5.8.1.3 Incrementar la solubilización de nutrientes
- 5.8.1.4 Generación de sustancias bioactivas como enzimas, hormonas, aminoácidos

5.8.2 Manejo de residuos sólidos y orgánicos

La experiencia de compost con la tecnología de me, perfectamente puede aprovechar al manejo de desecho orgánico urbanos con alta calidad de abono orgánico y su proceso más rápido comparado con el manejo convencional, no genera mal olor ni moscas. Por lo que el ME es una buena herramienta y estrategia para las autoridades municipales o industria elemental etc. Donde genera gran cantidad de desecho orgánicos para manejar desechos sólidos con forma sostenible (Villegas 2017).

5.9 Tecnología de conservación de los microorganismos eficientes

Desde tiempos remotos los microorganismos han sido empleados como materiales esenciales de trabajo en la obtención de medicamentos (antibióticos, vitaminas y aminoácidos), elaboración de alimentos (pan, queso, leche, bebidas y licores) y fabricación de solventes y reactivos, entre otras aplicaciones. El creciente uso de estos materiales biológicos en la biotecnología y la protección medioambiental han fortalecido la necesidad de mantener los cultivos microbianos de manera que las propiedades que los hacen importantes permanezcan estables (García 2000).

La preservación de cepas microbianas no es tarea fácil y debe garantizar la viabilidad, pureza y estabilidad genética de los cultivos, características que coinciden con los objetivos de un buen método de conservación.¹⁻³ El conocimiento de las peculiaridades de las disímiles técnicas de preservación existentes para su correcta aplicación, así como el seguimiento continuo de las propiedades de las cepas, propician su empleo como inóculo confiable en la industria, la docencia y la investigación (García 2000)

Con frecuencia la elección de la técnica más adecuada para conservar cultivos microbianos resulta difícil, pues deben tomarse en consideración los criterios de viabilidad y pureza de las cepas, cambios poblacionales y genéticos, número y valor de los cultivos, costo, suministro y transporte de cepas, así como la frecuencia del uso de los cultivos.^{2,4} El método de conservación que se elija debe garantizar la supervivencia de al menos el 70 % de las células por un período considerable de tiempo, de forma tal que la población sobreviviente se asemeje a la original como sea posible, conserve las propiedades de importancia de los cultivos y minimice la ocurrencia de los eventos genéticos. De igual manera debe reducir al mínimo el riesgo de contaminación y permitir que la pureza del cultivo permanezca inalterable (García 2000).

5.9.1 Consideraciones a tener en cuenta para la conservación de los microorganismos eficientes

Por su parte, en lo que respecta al costo de la conservación de cepas se incluyen los costos de personal, equipos y su mantenimiento, materiales y facilidades generales (almacenamiento y poder de abastecimiento). A esto se le suma la distribución, para la cual se necesitarán réplicas conservadas y empaquetadas convenientemente que permitan la llegada al lugar de destino en las mejores condiciones. Los microorganismos son enviados por varios medios: correo aéreo, postal o a través de las manos, de un laboratorio a otro dentro de un mismo país y con frecuencia a través de las fronteras o continentes.⁵ Su distribución y manipulación está regulada en el ámbito internacional y nacional, y para su transportación es necesario el uso del triple empaque^{6- 8} para asegurar que todo el personal involucrado en este proceso esté protegido de la exposición a cualquier agente contenido en el envase. Algunos cultivos son empleados como cepas controles, cepas de ensayo, cepas de producción industrial y pueden ser utilizadas frecuentemente en un laboratorio. En estos casos, la facilidad del recobrado y el riesgo de contaminación de los cultivos necesitan ser considerados.^{2,4,9} (Rhode 1995).

5.9.2 Congelación y Liofilización

Clasifican en la primera de estas categorías la congelación (a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) y la liofilización ¹⁻⁴ como técnicas que minimizan al máximo el riesgo de cambio genético en las células y las mantienen viables por 10 años o más, ventajas que han condicionado su extensa utilización para conservar disímiles materiales biológicos (cultivos de hongos, bacterias y levaduras, algas, suero, células sanguíneas, entre otros) y que sean reconocidas como técnicas de elección. El elevado costo de los equipos que emplean estos métodos dificulta su implementación en muchas instituciones, las que en ocasiones hacen uso del servicio de mantenimiento y conservación mediante estos, los cuales brindan colecciones de cultivos reconocidas (Rhode 1995).



Figura 13: Congelacion como técnica para conservar M.E. (Rhode 1995).

A mediano plazo, es el término que agrupa las técnicas con las que se logran mantener la viabilidad de los cultivos entre 2 y 5 años. Se destacan en este grupo la desecación en diferentes soportes (arena, sílica gel, perlas de vidrio) donde la paralización del crecimiento se produce por eliminación del agua disponible, (1-3,9) así como el almacenamiento en tierra, parafina líquida y la suspensión en agua estéril (destilada o de mar), métodos bien documentados en especial para los hongos (Rhode 1995).

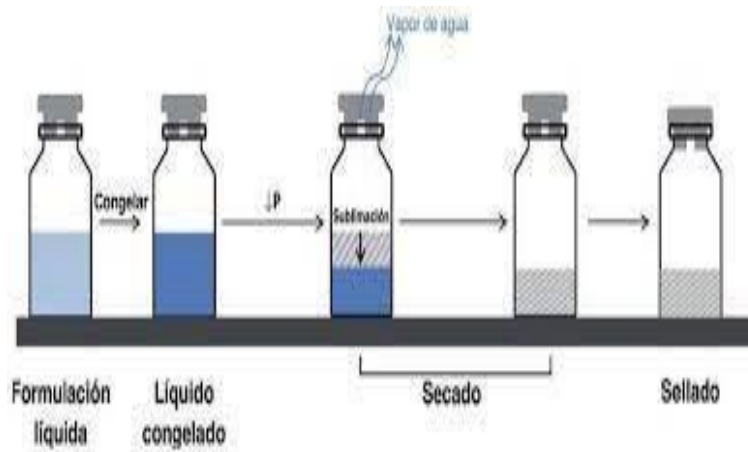


Figura 14: Preservación de M.E. por liofilización (Rhode 1995).

5.9.3 Resiembra periódica

La resiembra periódica es una técnica que permite la supervivencia de los cultivos en cortos períodos de tiempo, por eso se reconoce como un método de conservación a corto plazo.^{2,9} Se basa en transferir el cultivo del medio seco a uno fresco proporcionándole las condiciones óptimas de crecimiento, lo que condiciona el elevado riesgo de contaminación y variabilidad de las características de las cepas, las cuales constituyen sus principales desventajas (Floccari 1998).

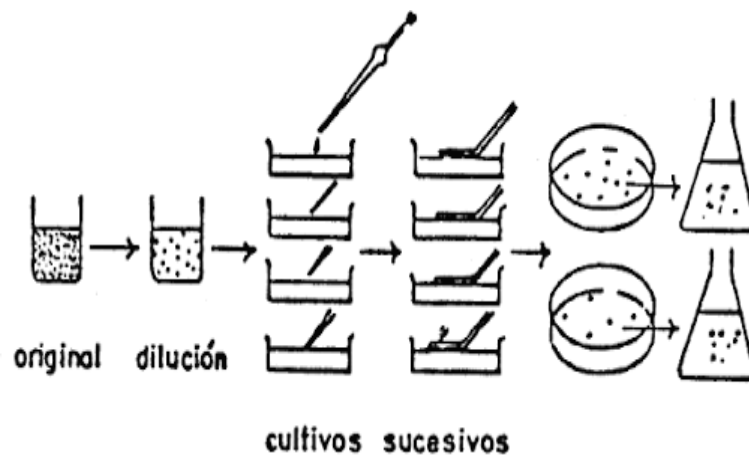


Figura 15: Resiembra periódica de M.E. (Floccari 1998).

Por último, es frecuente encontrar que una técnica de preservación resulte más efectiva para un grupo microbiano que para otro, lo que indica que además de considerar los aspectos anteriores es necesario revisar la literatura disponible sobre los microorganismos en cuestión y las alternativas de mantenimiento utilizadas, y adecuarlas a la situación real de la organización. Podemos entonces resaltar que no existe una técnica universal para conservar adecuadamente todos los microorganismos (Floccari 1998).

VI. Metodología

6.1 Ubicación del estudio

La investigación bibliográfica se desarrolló en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador ubicada en la Final 25 Avenida Norte, Ciudad Universitaria, Municipio de San Salvador, El Salvador bajo las condiciones de 698.31 m.s.n.m, Latitud: 13°71'96"72, Longitud: -89°20'21"3, Humedad: 94 %, Presión: 0.9998 Atm, Temperatura Máxima: 26.15°C y Temperatura Mínima: 22.15°C.

6.2 Fase de laboratorio

Se hizo una recopilación de información a partir de fuentes secundarias principalmente de publicaciones científica de revistas indexadas, como también a partir de medios audiovisuales, en búsqueda de caracterizaciones de especies y grupos de especies utilizadas en los denominados microorganismos eficientes, además de experiencias en la inoculación, tecnologías de reproducción, preservación, utilización y beneficios esperados de su aplicación. Se visitaron bibliotecas virtuales como Scielo, Google Académico, HINARI, Esco, Latindex y Redalyc, entre otros sitios donde se dispone información seria y con alta credibilidad. Se procuró incorporar literatura científica publicada en los últimos 10 años.

VII. Resultados

7.1 Recolección, reproducción y conservación de bacterias fototróficas

Materiales necesarios

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Asa bacteriológica.
- microscopio
- Agar sangre
- Incubadora
- freezer congelador

Material biológico

- Hojarasca en descomposición
- Agua de charco

7.1.2 Procedimiento para la recolección de bacterias fototróficas

- Recolectar en campo hojarasca seca en descomposición y meterá en un saco
- Colocar en un recipiente o frasco pequeño de boca ancha un poco de hojarasca en descomposición con agua de charco a temperatura ambiente
- Colocar una gota de agua entre el porta y cubreobjetos con el asa bacteriológica
- Observar en el microscopio los microorganismos obtenidos en la recolección

7.1.3 Procedimiento para la reproducción de bacterias fototróficas

- Tomar con el asa bacteriología una gota del cubreobjetos o del frasco con hojarasca descompuesta con agua de charco y se reparte sobre el medio de cultivo de agar sangre y tapar la caja de Petri.

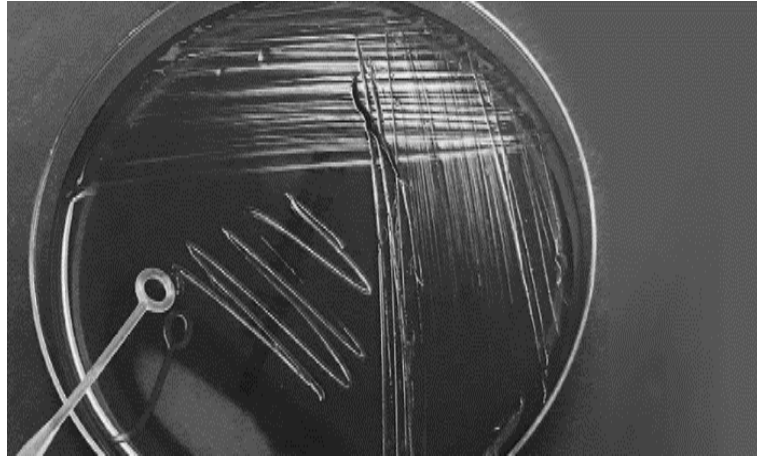


Figura 16: Reproducción de bacterias fototroficas en medio de cultivo agar (Floccari 1998).

7.1.4 Procedimiento para la conservación de bacterias fototroficas

- **Conservación en incubadora:** Colocar la caja de Petri con bacterias fototroficas en una incubadora de laboratorio a 35° C que es el ambiente ideal para la conservación por este medio.



Figura 17: Conservación en incubadora de bacterias fototroficas. (Floccari 1998).

- **Conservación en congelador:** Colocar la caja de Petri con bacterias fototroficas en un congelador a temperaturas -20°C y -80°C para evitar que se den cambios genotípicos.

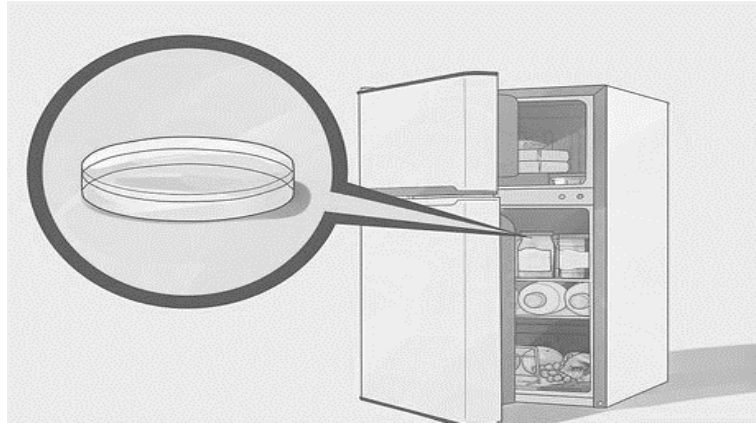


Figura 18: Congelación de bacterias fototróficas (Floccari 1998).

7.2 Recolección, reproducción y conservación de bacterias ácido lácticas

Materiales necesarios

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Asa bacteriológica.
- microscopio
- Agar sangre
- Incubadora
- freezer congelador

Material biológico

- Yogurt natural

Reactivo

- Lugol

7.2.1 Procedimiento para la recolección de bacterias ácido lácticas

- tomar con el asa bacteriológica una muestra y hacer una extensión delgada sobre un portaobjetos con una gota de Lugol y cubreobjetos.
- Observar que las bacterias se aprecian como puntos móviles y refringentes en todo el campo con el microscopio (Floccari 1998).

7.2.2 Procedimiento para la reproducción de bacterias ácido lácticas

- Tomar con el asa bacteriología una muestra de yogurt y se reparte sobre el medio de cultivo de agar sangre, posteriormente tapar la caja de Petri (Floccari 1998).

7.2.3 Procedimiento para la conservación de bacterias fototróficas

- **Conservación en incubadora:** Colocar la caja de Petri con bacterias ácido lácticas en una incubadora de laboratorio entre 20°C y 35° C para bacterias mesófilas y para termófilas entre 35 y 50 °C que es el ambiente ideal para la conservación por este medio (Floccari 1998).

7.3 Recolección, reproducción y conservación de levaduras

Materiales necesarios

- Medio de extracto de malta
- Glucosa
- Agua destilada
- Levadura seca
- Microscopio
- Tubos de vidrio
- Baño de maría
- Matraz de Erlenmeyer de 125ml

Reactivo

- solución de azul de metileno

7.3.1 Procedimiento para la recolección, reproducción y conservación de levaduras

Materiales

- Una elaboración anterior.
 - Unos tarros de cristal con tapa de rosca (3 ó 4 tarros de judías reciclados).
 - Unos viales reutilizados de las levas líquidas (opcional).
 - Un poco de agua estéril (grifo).
 - Jeringuilla de tamaño grande (opcional).
- Preparar tarro con agua esterilizada
 - De la elaboración anterior, se procede a pasar sedimento a el tarro esterilizado con agua



Figura 19: Sedimentos de levadura en cubo fermentador. (Gao 2019)

- Dejar reposar los tarros sin revolver durante 2 o 3 horas, luego se tienen las capas y una de ellas contiene las levaduras

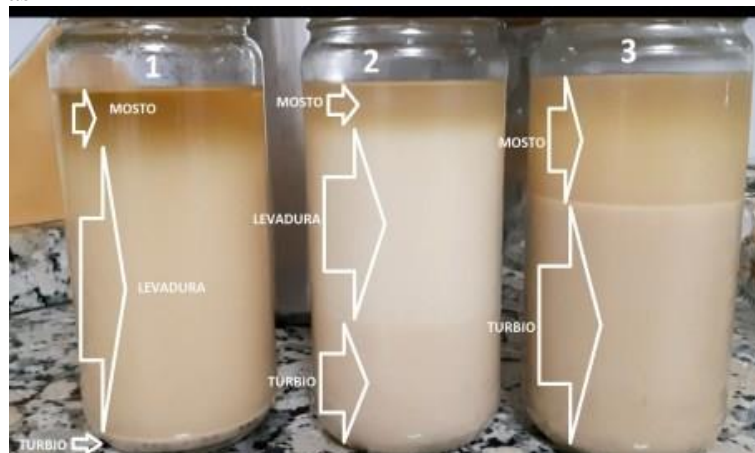


Figura 20: Mosto y levadura (Gao 2019)

- Posteriormente se vierten las dos primeras capas solo de mosto y levadura sin lo turbio a un bote y este se refrigera a -20°C por tres días



Figura 21: Tarro de mosto con levaduras al fondo. (Gao 2019)

- Pasados esos tres días se han formado mayormente dos capas, una primera de un líquido parecido en color al mosto, y una segunda capa lechosa de color blanquecino que contiene las levaduras (Gao 2019).

7.3.2 Procedimiento para la conservación de levaduras

- Se sustraen las levaduras en viales se colocan en refrigeración y se refrigeran a temperaturas entre 3 y 8°C o selladas en un sitio seco y templado a temperatura ambiente.

7.4 Procedimiento para la recolección y reproducción de actinomicetes

Materiales

- Cabina de seguridad biológica C4, modelo FLC 120 (Cali, Valle del Cauca; Colombia).
- Incubadora con Temperatura controlada de 28°C , VELP Scientifica, modelo FOC 225 i
- Incubadora con temperatura controlada de 35°C , MLW, NURFÜR 110 v~, Tipo BSU 3, Numero 74089
- Autoclave JP SELECTA, Número de Serie 0464704
- Microscopio LEICA DM500, CH-9435 Heerbrugg (Switzerland)
- Estereoscopio UNICO ZM181HF
- Balanza analítica OHAUS
- pHmetro Shimadzu

- Para efectuar este aislamiento se emplea el método de diluciones seriadas, (Ramírez, L 2000), el cual inicia tomando una muestra de 10 gramos de suelo los cuales se adicionan a 90mL de Agua Destila Estéril (ADE). Esta es la solución madre, de donde al tomar 1mL y depositarlos en 9mL de ADE se prepara la primera dilución 10⁻¹, a partir de esta se lleva a cabo las siguientes diluciones sucesivas hasta llegar a 10⁻⁹. Luego, se siembra 0,1mL de cada dilución por superficie en Medio Ashby por triplicado. Finalmente se lleva a Incubación durante 10 días a 28°C, temperatura óptima para el crecimiento de microorganismos mesófilos como son la mayoría de Actinomicetos, (Stanley, 1994). Este procedimiento se repite para cada una de las siete (7) muestras de suelo extraídas, (Ramírez, L 2000).

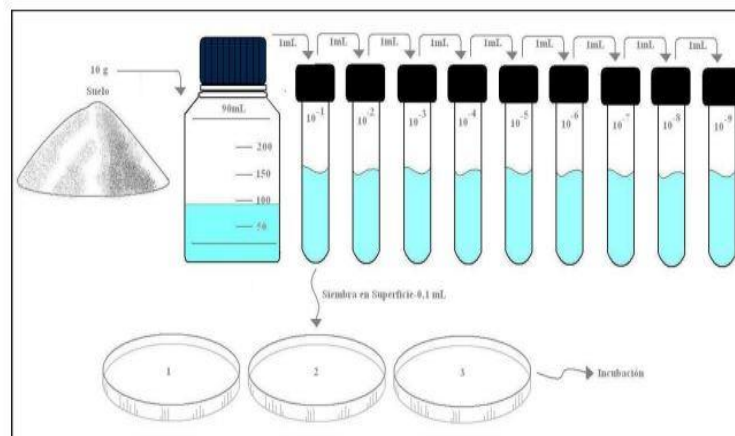


Figura 22: Aislamiento de actinomicetos. (Ramírez, L 2000)

Por medio de la técnica de Ridell, el Microcultivo, se puede observar el crecimiento del micelio aéreo de los Actinomicetos al generarse cultivos sobre un cubreobjetos y portaobjetos. La observación de la ramificación del micelio aéreo según patrones de acuerdo a cada género, ayuda en su identificación al ser comparado con micelios aéreos de Actinomicetos reportados en la clave taxonómica de Bergey, El procedimiento a seguir es el descrito a continuación:

1. Se realiza una siembra de cada microorganismo en medio Ashby por agotamiento.
2. Se corta en forma de cuadro de 1cm de lado y 3mm de espesor con un bisturí estéril y caliente el medio de cultivo inoculado.
3. Se lleva los cuadros a un frasco tapa azul que contenga 50 mL de agua destilada estéril y se realiza agitación constante durante 15 minutos.

4. Se realiza de nuevo el corte en forma de cuadros en una caja de Petri que contiene medio de cultivo Ashby sin inocular para obtener cuadrillos de agar que luego serán inoculados con la cepa.
5. Se siembra 1mL de la solución del frasco tapa azul a la caja de Petri del punto anterior, por superficie y se agita para homogenizar la siembra.
6. Se coloca el cuadro de medio Ashby inoculado en un portaobjeto que esta sobre dos palillos en una caja de Petri (previamente esterilizada).
7. Se coloca sobre el Agar un cubreobjeto y se presiona ligeramente para que se adhiera al medio.
8. Se coloca una mota de algodón humedecido con agua destilada estéril en un extremo de la caja de Petri para mantener la humedad.
9. Se incuba la caja a 28°C durante 10 días.
10. Se realizan observaciones los días 3, 6 y 9. Realizando tinción de Azul de Lactofenol al Agar y el cubreobjeto, y tinción de Gram al portaobjeto.
11. Se comparan la estructura miceliales de los días mencionados anteriormente y se comparan con la clave taxonómica de Bergey2000. (Identificación de género parcial).

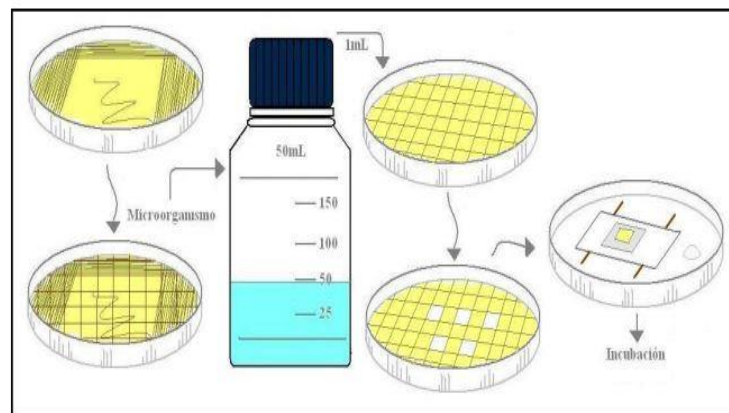


Figura 23: Crecimiento de actinomicetos en medio de cultivo. (Ramírez, L 2000)

7.5 Recolección, reproducción y conservación de Hongos formadores de Micorrizas Arbusculares (HMA)

7.5.1 Recolección

Es necesario aclarar que los Hongos formadores de Micorrizas Arbusculares (HMA) se distribuyen en el perfil de suelo de manera no aleatoria debido a su característica biótrofa-obligada, su presencia está condicionada a la existencia de material radical (vegetal) vivo. Por esta razón, si lo que se desea coleccionar son propágulos activos de HMA, el material coleccionado deberá consistir en raíces y suelo rizosférico asociado.

7.5.2 Aislamiento de Hongos formadores de Micorrizas

Los propágulos infectivos de los HMA pueden ser esporas, hifas o raíces previamente colonizadas por los hongos. Para el aislamiento de dichos hongos se puede proceder a tamizado de las muestras de suelo en tamices de tamaños de malla de 420-30 μm . Sin embargo, para una mejor visualización-colección de los propágulos se recomienda la extracción de esporas o hifas mediante tamizado en húmedo y centrifugación en sacarosa.

Materiales necesarios

- Tubos de centrifuga de 50 mL.
- Tamices de suelo con malla 0,42 e 0,053 mm (420-30 μm).
- Placas de Petri.
- Piseta.
- Baldes plásticos.
- Varillas de vidrio.
- Sacarosa o azúcar refinada.
- Agua destilada.
- Material biológico
- Esporas.
- Hifas.
- Raíces previamente colonizadas.

Equipamientos

- Lupa (microscopio estereoscópico).

- Centrífuga con rotor para tubos de 50 ml Balanza.
- Agitador con temperatura.
- Heladera.

7.5.3 Preparación de la Solución de Sacarosa para la conservación

- La extracción de esporas de HMA puede ser realizada utilizando una solución de 45, 50 o 60% de sacarosa:
- Sacarosa 45 % (450 g de azúcar refinado o cristal, llevando la solución a 1L con agua destilada).
- Sacarosa 50 % (500 g de azúcar refinado o cristal, llevando la solución a 1L con agua destilada).
- Sacarosa 60 % (600 g de azúcar refinado o cristal, llevando la solución a 1L con agua destilada).
- Para favorecer la disolución puede requerirse agitación o calor de la solución.
- Cuando la sacarosa este totalmente disuelta la solución presentará una coloración amarillenta y translúcida.
- En caso de no utilizar toda la solución, almacene en heladera para evitar la proliferación de microorganismos.
- Procedimiento
- Lavar los tamices con esponja y detergente
- Homogenizar las muestras de suelo y separe 50 mL (aprox. 50 g) para la extracción.
- Transferir los 50 mL de la muestra en un balde plástico de 2 L.
- Humedecer y disgregar los terrones de suelo presionándolos con los dedos o contra las paredes del balde. Suspender el suelo en el agua con la ayuda de una varilla de vidrio mediante movimientos circulares durante 1 minuto.
- Dejar en reposo por aproximadamente 1 minuto (a efectos de que las partículas más gruesas decanten por su propio peso).
- Vertir el agua sobre los tamices (los cuales deben estar superpuestos, con el tamiz de mayor abertura de malla en el extremo superior y disminuyendo de acuerdo a disminución en abertura de malla). Solo verter el líquido flotante, mientras que las partículas decantadas permanecerán en el fondo del balde.

- Repetir el procedimiento al menos 2 veces más, hasta que el agua permanezca prácticamente limpia, sin abundantes partículas en suspensión.
- Descartar el suelo restante en el balde en recipientes a tal fin.
- Recoger el material retenido en el tamiz de 130 μm malla en una placa de Petri con ayuda de corriente de agua aportada con piseta a efectos de observar (y recolectar) esporas de gran tamaño, grupos de esporas o esporocarpos.
- Recoger el material retenido en el tamiz de 53 μm malla y con ayuda de corriente de agua aportada con piseta transferirlo a un tubo centrífuga de 50 mL.
- Lavar bien los tamices con esponja y detergente y repetir el procedimiento para otras muestras, si las hubiera.
- Pesar los tubos con el suelo recogido de los tamices y completarlos con agua de manera que todos los tubos queden con el mismo peso.
- Trabajar siempre con un número par de muestras y considerando la capacidad de muestras de la centrífuga. En caso de número impar de muestras deberá equilibrar la centrífuga incorporando un tubo extra con agua.
- Centrifugar a 3000 rpm por 3 minutos.
- Retirar los tubos y descartar cuidadosamente el sobrenadante sin mover las partículas sólidas decantadas en el fondo del tubo. En esta primera centrifugación, las esporas se encuentran decantadas junto con las partículas de suelo que atravesaron el tamiz. Partículas de suelo de bajo peso se encuentran en el sobrenadante.
- Agregar a los tubos una solución de sacarosa 45, 50 o 60 % hasta completar aproximadamente 40 mL.
- Es probable que dependiendo de las características del suelo de la muestra deberá poner a punto la concentración de sacarosa adecuada a utilizar para la extracción

VIII. Conclusiones

- Los principales grupos microbianos que componen a los microorganismos eficientes son: bacterias fototróficas, bacterias ácido lácticas, levaduras, actinomicetes y hongos fermentadores.
- Las propiedades funcionales y aplicaciones desde el punto de vista agrícola de los ME promueven la germinación de semillas, el crecimiento y desarrollo de los frutos y permiten una reproducción más exitosa en las plantas. Adicionalmente se ha demostrado que mejoran la estructura física de los suelos, incrementan la fertilidad química de los mismos y suprimen a varios agentes patógenos causantes de enfermedades en numerosos cultivos.
- Los ME incrementan la capacidad fotosintética de los cultivos, así como su capacidad para absorber agua y nutrientes. Además, mejoran la calidad y reducen los tiempos de maduración de abonos orgánicos, en particular, el composteo. Todos estos aspectos explican el incremento del rendimiento agrícola y el amplio uso de los ME, así como productos derivados de estos como los bioles.
- Los EM se pueden reproducir o cultivar de dos maneras. La primera es en forma líquida, los Microorganismos Efectivos se hacen crecer en una solución con un pH de 3.5, que se obtiene bajo un tratamiento a alta presión por la interacción de un grupo muy diverso de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos que se encuentran en el medio ambiente en forma natural.
- El método de conservación que se elija debe garantizar la supervivencia de al menos el 70 % de las células por un período considerable de tiempo, de forma tal que la población sobreviviente se asemeje a la original como sea posible, conserve las propiedades de importancia de los cultivos y minimice la ocurrencia de los eventos genéticos.

IX. Bibliografía

- AMER CONSULTORES S.A de C.V. 2021. Gira de campo. Ponencia de productor orgánicos que contienen microorganismos orgánicos. Tonacatepeque, San Salvador, El Salvador.
- EEAITAJ. 2009. Microorganismos Eficaces (EM)». Estación Experimental Agropecuaria para la Instalación de Tecnologías Apropriadas de Japón. Soriano, Uruguay. (en línea). Consultado: 22 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en: http://www.emuruguay.org/PDF/Microorganismos_Eficaces_EM_Presentacion_breve.pdf
- FEIJOO, M. A. L. 2016. Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. (en línea). Consultado: 28 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en: <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/84>
- García. 2000. Uruburu F. La conservación de cepas microbianas. (en línea). Consultado: 26 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2232/223214847006.pdf>
- Guim, A.; Ruggieri, A.; Andrade, P. 1995. Efecto de inoculante microbiano sobre consumo, degradado in situ e digestible aparente. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Brazil
- HORWATH, W. R. 2017. The role of the soil microbial biomass in cycling nutrients. In: Microbial Biomass: A Paradigm Shift in Terrestrial Biogeochemistry. (en línea) Consultado 2 de septiembre de 2022. Pdf. Disponible en: https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9781786341310_0002 (en línea) Consultado 13 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/Dw4tc7Whf8wTHxh5rc7fC9G/?format=pdf&lang=pt>
- Hoyos et al., 2008. Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. Riobamba, Ecuador. (en línea) Consultado 13 de mayo de 2021. Pdf. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/cag/v46n2/0253-5785-cag-46-02-93.pdf>
- Hurtado. 2001. Qué son microorganismos eficientes? (en línea). Consultado: 18 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en: <http://es.answers.yahoo.com/question/index?qid=20080731132826aa6mgb>
- IDIAF. Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales 2009. Beneficios de los microorganismos eficientes en la agricultura. (en línea) Consultado: 10 de enero de 2021. Pdf. Disponible en: <http://www.idiaf.org.do/noticias/detallemain.php?recordID=971>

- INFOAGRO. 2011. Guía de la Tecnología de EM. (en línea). Consultado: 22 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en:
<http://www.infoagro.go.cr/Inforegiones/.../Boletin%20Tecnologia%20%20EM.pdf>
- Mendoza L. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA. “Proceso de reproducción de bacterias fototróficas mediante bio fermentación. (en línea). Consultado 14 de mayo de 2021. Pdf. Disponible en:
<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/5433/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000121.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rhode. 1995. Packing and shipping of biological materials. (en línea). Consultado: 26 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/13921204_Safe_biotechnology_8_Transport_of_infectious_and_biological_materials_Working_Party_Safety_in_Biotechnology_of_the_European_Federation_of_Biotechnology
- TOALOMBO, R. 2012. Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos aplicados en el cultivo de cebolla blanca (*Allium fistulosum*). (en línea). Consultado: 22 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/2217/1/Tesis-22agr.pdf>
- Tolentino G. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. 2020. Elaboración de abono orgánico con residuos domésticos de alimentos separados in situ y tratados con microorganismos efectivos. (en línea) Consultado 14 de mayo de 2021. Pdf.
Disponible en:
<http://193.147.134.18/bitstream/11000/5863/1/TFM%20%20D%C3%ADaz%20Tolentino%20%20Gerardo%20Ignacio%20.pdf>
- TORRES, A., QUIPUZCO, L., MEZA, V. 2015. Influencia de la fermentación láctica (abono bokashi) en el pre-compost para la producción de biogás y biol en biodigestores tipo Batch.(en línea) Consultado 12 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en:
<https://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/acu/article/view/791>

- YANG, Z., JIANG, Z., HSE, C. Y., LIU, R. 2017. Assessing the impact of wood decay fungi on the modulus of elasticity of slash pine (*Pinus elliottii*) by stress wave non-destructive testing. *International Biodeterioration & Biodegradation*. (en línea) Consultado 13 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en: <https://www.fs.usda.gov/treearch/pubs/54799>
- KAKRALIYA, M. y SINGH, R. 2018. Effect of soil test crop response basis integrated nitrogen management on cows, quality and profitability of wheat (*Triticum aestivum* L.) *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. (en línea) Consultado 1 de septiembre de 2022. Pdf. Disponible en: <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue4/PartI/7-3-618-519.pdf>
- NELE, W., VAN DER, D.L., SAFIYH, T., *et al.* 2009. Exploiting plant-microbe partnerships to improve biomass production and remediation. *Trends in Biotechnology*. (en línea) Consultado 1 de septiembre de 2022. Pdf. Disponible en: https://www.academia.edu/14017176/Exploiting_plant_microbe_partnerships_to_improve_biomass_production_and_remediation
- VILLEGAS, V. M. y LAINES, J.R. 2017. Vermicompostaje: I avances y estrategias en el tratamiento de residuos sólidos orgánicos. (en línea). Consultado: 25 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342017000200407
- NELE, W., VAN DER, D.L., SAFIYH, T., *et al.* 2009. Exploiting plant-microbe partnerships to improve biomass production and remediation. *Trends in Biotechnology*. (en línea) Consultado 1 de septiembre de 2022. Pdf. Disponible en: https://www.academia.edu/14017176/Exploiting_plant_microbe_partnerships_to_improve_biomass_production_and_remediation
- GAO, YT., ZHANG, YS., WEN, X., *et al.* 2019. The glycerol and ethanol production kinetics in low-temperature wine fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains. *International Journal of Food Science Technology*. (en línea). Consultado 3 de setiembre de 2022. Pdf. Disponible en: <https://prezi.com/rtisog-owf/levaduras-en-la-agroindustria/>
-
- Ramirez L. 2000. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ACTINOMICETOS FIJADORES DE NITRÓGENO EN SUELO DEL JARDÍN BOTÁNICO DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA. (en línea). Consultado 3 de setiembre de 2022. Pdf. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/71397057.pdf>

- Covasevich et al, 2014. Herramientas para el estudio y manipulación de Hongos Micorrícicos Arbusculares y Trichoderma. (en línea). Consultado 3 de setiembre de 2022. Pdf. Disponible en: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/108183/CONICET_Digital_Nro.a4735b83-ea20-4ed0-bd08-d4bfaacfe40_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Floccari M. 1998. Métodos de conservación de cultivos bacterianos. (en línea). Consultado:28 de setiembre de 2021. Pdf. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-223474?lang=es>
- Freitag, D. 2000. The Use of Effective Microorganisms (EM) in Organic Waste Management. (en línea). Consultado el 14 de setiembre de 2021. Pdf. Disponible en:<http://emtrading.org/em/papers/emwasterepfreitag.pdf>
- Cardona G. J. y García G. L. A. 2001. Evaluación del efecto de los microorganismos eficaces (ME) sobre la calidad de un agua residual doméstica. Tesis en opción a la carrera de Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Bogotá. (en línea). Consultado: 22 de setiembre de 2021. Pdf. Disponible en: <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis204.pdf>
- UTE, Universidad Tecnológica Equinoccial, Santo Domingo. 2013. EVALUACIÓN DE DOS SISTEMAS DE COMPOSTAJE CON LA ACCIÓN DE MICROORGANISMOS PARA EL MANEJO DE DESECHOS ORGÁNICOS DE LA PLANTA AGROINDUSTRIAL UTE SEDE SANTO DOMINGO. Santo Domingo, Ecuador. (en línea) Consultado 13 de mayo de 2021. Pdf. Disponible en: <file:///C:/Users/Mauricio/Downloads/259-Texto%20del%20art%C3%ADculo-439-1-10-20171017.pdf>
- CHÁVEZ, C. M. F. 2017. Evaluación del efecto que tienen los microorganismos eficientes (EM), en el cultivo de pepinillo (*Cucumis sativus* L.), La Paz, Bolivia. (en línea) Consultado 13 de mayo 12 de setiembre de 2021. Pdf. Disponible en:http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1979_07.pdf
- MEENA, S. K. y MEENA, V. S. 2017. Importance of soil microbes in nutrient use efficiency and sustainable food production. In: Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture, (en línea). Consultado 12 de setiembre de 2021. Pdf. Disponible en:

https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-5343-6_1

- VURUKONDA, S. S. K. P., GIOVANARDI, D., STEFANI, E. 2018. Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*. (en línea). Consultado 13 de septiembre de 2021. Pdf. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/4/952>
- Quevedo J, 2018. UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA. MANEJO INTEGRADO DEL CULTIVO DE BANANO (MUSA X PARADISIACA L.) CLON WILLIAMS, USANDO BIOCARBÓN Y MICROORGANISMOS EFICIENTES. Machala, Ecuador. (en línea). Consultado 15 de mayo de 2021. Pdf. Disponible en: http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/13263/1/DE00030_TRABAJO_DETITULACION.pdf

X. Anexos



Anexo 1:: Ponencia sobre productos orgánicos que contienen me impartida por AMER Consultores.



Anexo 2:Producto Eficaz de AMER Consultores utilizada para la biorremediación del suelo.



Anexo 3: Productos orgánicos hechos con microorganismos eficientes de AMER Consultores.