

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE PARAMETROS FISICOQUIMICOS Y  
MICROBIOLOGICOS DEL LIXIVIADO OBTENIDO DEL ESTIERCOL DE  
BOVINO UTILIZANDO *Eisenia foetida* (LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA)

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:**

CESAR RAFAEL CHAVEZ CARRANZA  
ANGEL ENMANUEL FUENTES UMANZOR

**PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA**

ABRIL, 2013

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR:**

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

**SECRETARIA GENERAL:**

DRA. ANA LETICIA ZA VALETA DE AMAYA

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANA:**

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

**SECRETARIO:**

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

## **COMITE DE TRABAJOS DE GRADUACION**

### **COORDINADORA GENERAL:**

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo.

### **ASESORA DE AREA DE MICROBIOLOGIA:**

MSc. Coralia de los Angeles González de Díaz.

### **ASESORA DE AREA DE ANALISIS DE ALIMENTOS: QUIMICA AGRICOLA:**

MSc. Ena Edith Herrera Salazar

### **DOCENTES DIRECTORES:**

MAE. María Elisa Vivar de Figueroa

Lic. Héctor Manuel Shunico Shunico

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

## **AGRADECIMIENTOS**

**A Dios** nuestro Padre, por darnos la vida, sabiduría para alcanzar esta meta, porque nunca se ha separado de nosotros, y por regalarnos su inmenso Amor.

**A nuestros docentes directores** MAE. María Elisa Vivar de Figueroa por su espíritu materno, por el gran cariño mostrado hacia nosotros, por regalarnos parte de sus conocimientos en el análisis agrícola, por su paciencia, por esos agradables momentos en las clases, será inolvidable. MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez por mostrarnos la excelente persona que es, por su tiempo, por su paciencia, por los conocimientos en el campo microbiológico que estamos seguros que serán de mucha ayuda en nuestra vida profesional. Lic. Héctor Manuel Shunico Shunico por ser un excelente profesional y amigo a la vez, gracias por su tiempo, por su paciencia, por los conocimientos de lombricultura regalados.

Docentes directores esto no habría sido posible sin ustedes, muchas gracias por todo.

**A las licenciadas** Coordinadora General de Trabajos de Graduación Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo, y nuestras asesoras de área MSc. Ena Edith Herrera Salazar y MSc. Coralia González de Díaz, por la ayuda e interés mostrado a este trabajo. Son parte del éxito alcanzado en esta investigación, gracias por todo.

**A todos los docentes de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador** por todos los conocimientos que nos regalaron a lo largo de la carrera, por formarnos como verdaderos profesionales.

**Cesar Rafael Chávez Carranza**

**Angel Enmanuel Fuentes Umanzor**

## DEDICATORIA

**A Dios Padre todo poderoso** por la vida, por la sabiduría, por el Amor, por todas las bendiciones que he recibido de su parte, por acompañarme en cada momento, por la bendición de alcanzar una meta de mucho valor en mi vida.

**A mi abuelita** Rogelia Umanzor por ser una madre para mí, por su apoyo y sus oraciones, por estar siempre conmigo en esos momentos difíciles, por regalarme todo su amor sin pedir nada a cambio, por entregarse por completo, por ser mi ejemplo a seguir, eres la verdadera esencia de persona que algún día quiero llegar a ser.

**A mi abuelo** Joaquín Guzmán que ya está junto al Padre. Como un día te lo prometí, esta meta va en tu honor, gracias por la inspiración.

**A mi papá** Angel Fuentes que ha sido un excelente ejemplo en mi vida. Por los consejos, por el apoyo incondicional que me ha dado para alcanzar mis metas.

**A mi familia** que cada uno de sus miembros ha contribuido en una parte para poder cumplir esta meta, gracias por sus muestras de cariño, han sido un apoyo muy grande para mí.

**A esas personas** que se han convertido en parte de mi familia, quiero decirles que ahora mi familia es enorme gracias a ustedes. Por sus muestras de cariño, por sus oraciones, por sus consejos, por ser una fuente de inspiración. De cada uno de ustedes he aprendido algo.

**A mi compañero de tesis** César Chávez por la paciencia que me ha tenido en la realización de este trabajo. Amigo, al fin terminamos este desafío.

Y a todos aquellos que se involucraron en la investigación. La gente humilde de la Hacienda San Luis Los Potros en Huizucar y Mendoza en San Cristóbal.

**Angel Enmanuel Fuentes Umanzor**

## **DEDICATORIA**

**A DIOS todo poderoso** por estar conmigo en todo momento y siempre darme la sabiduría, salud y fuerzas para culminar mi trabajo de graduación.

**A toda mi familia** en especial a mi madre (Mirna Carranza), mi padre (Cesar Chávez), mi tía (Martha Carranza), mi hermano (Edwin Carranza) y mi abuelita (Angélica Agreda) por darme todo su apoyo y amor en todo el transcurso de mi vida y de mi carrera profesional.

**A mi compañero** (Ángel Fuentes), por haberme ayudado mucho para culminar nuestra carrera profesional y nuestro trabajo de graduación.

**A toda la familia** Albeño Ruíz por siempre darme todo su apoyo durante toda mi carrera en especial a (Gladys Ruíz y Raúl Albeño).

**A todos mis amigos/as** que de alguno u otra manera siempre me ayudaron y me apoyaron durante toda mi carrera profesional.

**César Rafael Chávez Carranza**

## INDICE

	Pág.
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xvi
Capitulo II	
2.0 Objetivos	
2.1 Objetivo General	
2.2 Objetivos Específicos	
Capítulo II	
3.0 Marco teórico	21
3.1 Historia de la lombricultura.	21
3.2 Características de la <b><i>Eisenia foetida</i></b> .	22
3.2.1 Características externas de la lombriz.	24
3.2.2 Características anatómicas.	26
3.3 Razones de elección de <b><i>Eisenia foetida</i></b> .	31
3.4 Aspectos generales de la producción y manejo de la <b><i>Eisenia foetida</i></b> (Lombriz Roja Californiana).	32
3.4.1 Manejo de lombricultivo.	33
3.4.2 Tipos de sustratos para la alimentación de lombrices.	38
3.4.3 Frecuencia y cantidad de alimento proporcionado.	39
3.4.4 Necesidades de humedad y frecuencia de riego.	39
3.4.5 Trastornos fisiológicos.	40
3.4.6 Enemigos naturales.	40

3.5 Escalas de Producción de lombricultivo.	41
3.6 Productos de lombricultura	41
3.6.1 Lombricompost	41
3.6.2 Carne de lombriz	43
3.6.3 Harina de lombriz	44
3.5.4 Lixiviado de lombriz	45
3.7 Generalidades de microbiología	47
3.7.1 Salmonelosis	48
3.7.2 Coliformes y grupo de Coliformes Fecales	51
3.7.3 <b><i>Escherichia coli</i></b>	52
Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	56
4.1 Tipos de estudio	56
4.2 Investigación bibliográfica	56
4.3 Investigación de campo	56
4.3.1 Localización	56
4.3.2 Especie a utilizar	57
4.3.3 Sustrato utilizado	57
4.3.4 Tiempos de análisis	57
4.3.5 Recolección de sustrato y Lombriz Roja Californiana	57
4.3.6 Preparación de los sustratos	58
4.3.7 Instalación y Equipo	58
4.4 Plan de manejo de lombricultivo	59
4.5 Parte Experimental.	60
4.5.1 Recolección de muestras para análisis	60
4.5.2 Metodologías de Análisis Físicoquímico	61
4.5.3 Metodologías de Análisis Microbiológico	65



Capítulo V

5.0 Resultados y Discusión de Resultados 69

Capítulo VI

6.0 Conclusiones 80

Capítulo VII

7.0 Recomendaciones 83

Bibliografía

Glosario

Anexos

## INDICE ANEXOS

### Anexo No.

1. Preparación de medios de cultivo para análisis microbiológico.
2. Esquema de manejo de lombricultivo.
3. Fotografías de recolección y transporte de la lombriz.
4. Fotografías de instalaciones del campo experimental.
5. Fotografías inoculación de lombriz.
6. Fotografías producción y recolección de lixiviado.
7. Fotografías transporte y analisis al lixiviado.
8. Esquemas de metodologias microbiologicas.
9. Fundamentos de las metodologias.
10. Preparacion de reactivos.
11. Tabla del número mas probable.
12. Resultados de estudio a un lixiviado utilizando *Eisenia andrei* en el departamento de ciencias ambientales de la universidad de Guadalajara
13. Especificaciones fisicoquimicas y microbiologicas de Norma Mexicana para Humus (NMX: FF-109-SFCI-2008)
14. Metodología para la determinación de humedad por medio del método del puño

## INDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Pág.
1. Clasificación taxonómica de <i>Eisenia foetida</i>	24
2. Parámetros que alteran el desarrollo de <i>Eisenia foetida</i>	33
3. Enfermedades producidas por el género <i>Salmonella</i>	50

## INDICE DE FIGURAS

Figura N°	Pág.
1. Morfología externa de <i>Eisenia foetida</i>	26

## INDICE DE TABLAS

Tabla N°	Pág.
1. Resultados fisicoquímicos de lixiviado obtenido en la primera semana.	71
2. Resultados fisicoquímicos de lixiviado obtenido en la quinta semana.	72
3. Resultados fisicoquímicos de lixiviado obtenido en la novena semana.	73
4. Promedios de cantidades de elementos por tiempo de muestreo	73
5. Resultados microbiológicos obtenidos en semana uno, semana cinco y semana nueve	74
6. Comparación de resultados presentados por lixiviado producido con <i>Eisenia foetida</i> con especificaciones de Normativa Mexicana para Humus y resultados de estudio realizado en México	78

## RESUMEN

El trabajo consistió en determinar parámetros fisicoquímicos y microbiológicos del lixiviado obtenido del estiércol de bovino utilizando *Eisenia foetida* (lombriz roja californiana), en tres diferentes etapas de maduración (primera, quinta y novena semana). Este lixiviado se produjo en la Hacienda San Luis Los Potros, Cantón Tilapa, municipio de Huizucar, en el departamento de La Libertad.

En las determinaciones fisicoquímicas se cuantificaron cinco de los macroelementos más importantes en el desarrollo de una planta: Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio (AOAC, 2000), así como de un parámetro que ayuda en la asimilación de nutrimentos; el pH. Se determinó también la densidad del lixiviado. Las determinaciones microbiológicas se centraron en microorganismos presentes en la flora normal del intestino de los bovinos y en un patógeno: coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* (Metodologías para agua potable, APHA 17<sup>a</sup> edición).

Los resultados obtenidos se compararon con datos presentados en la Norma Mexicana para humus de lombriz (NMX: FF-109-SCFI-2008) y con un estudio realizado en la Universidad de Guadalajara a un lixiviado obtenido utilizando *Eisenia andrei*. Los resultados fisicoquímicos a partir de la primera semana de producción se empezaron a observar cantidades considerables de macroelementos. En cuanto a los resultados microbiológicos no se visualizó una reducción de microorganismos en la producción de lixiviado en las diferentes etapas de maduración; no se puede asegurar si la *Eisenia foetida* es capaz de realizar una reducción. El lixiviado de nueve semanas fue el que presentó los mejores resultados fisicoquímicos: Fósforo 478.500 ppm, Potasio 4,850.000 ppm, Calcio 950.000 ppm, Magnesio 300.000 ppm; comparado con los lixiviados de la primera y quinta semana, debido al proceso de recirculación que se le realizó al lixiviado de quinta semana. Se recomienda su utilización en la fertilización de cultivos de alimentos que no se consuman en forma cruda.

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCION**

## 1.0 INTRODUCCION

Las constantes alzas en los precios de los alimentos y una elevada contaminación ambiental, debido a la utilización de insumos sintéticos para la producción de alimentos ha sido tema de preocupación en nuestro país. Por estas y otras razones, los agricultores nacionales se ven en la necesidad de implementar nuevas técnicas para el desarrollo de los cultivos, que disminuyan de manera total o parcial el uso de productos sintéticos, entre estas técnicas encontramos la lombricultura, la cual es una biotecnología que utiliza una especie domesticada de lombriz, como una herramienta de trabajo. La lombriz recicla todo tipo de materia orgánica como pulpa de café, excremento de bovino y de porcino, entre otros tipos de sustrato (que en su mayoría de veces son desechados por el productor), y como resultado se obtiene: lombricopost, carne de lombriz, harina de lombriz y lixiviado de lombriz. El uso de lixiviado de lombriz en la producción de cultivos ha aumentado considerablemente en nuestro país, por los buenos resultados que éste ha presentado.

A pesar de la creciente utilización de lixiviado de lombriz, no existe normativa nacional ni internacional que regule la calidad fisicoquímica y microbiológica de este producto. Por lo que existe el riesgo de que el lixiviado no presente la calidad adecuada para su uso.

Por esta razón la presente investigación se centró en realizar determinaciones fisicoquímicas y microbiológicas a un lixiviado obtenido del estiércol de bovino (debido a que este sustrato en investigaciones anteriores en producción de lombricompost, presentó los mejores resultados fisicoquímicos, comparado con otros tipos de sustratos) utilizando *Eisenia foetida* (lombriz roja californiana), en tres diferentes etapas de maduración (primera, quinta y novena semana después de iniciado el proceso de producción).

Las determinaciones fisicoquímicas que se realizaron fueron la cuantificación de cinco de los macroelementos más importantes para el buen desarrollo de una



planta: Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio (AOAC, 2000), las cuales se realizaron por duplicado en los laboratorios de química agrícola del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA). Así también se realizaron determinaciones de un parámetro importante para la asimilación de los nutrimentos, como lo es el pH. Se determinó también la densidad del lixiviado. Estas determinaciones se llevaron a cabo por duplicado en los laboratorios de Química Agrícola de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. Las determinaciones microbiológicas se centraron en microorganismos que están presentes en la flora normal del intestino de los bovinos y en un microorganismo patógeno que puede estar presente en un bovino enfermo, entre los que tenemos: coliformes totales, coliformes fecales, ***Escherichia coli*** y ***Salmonella spp.*** (Metodologías para aguas de agua potable del APHA 17<sup>a</sup> edición). Estas determinaciones se realizaron por cada tiempo de maduración en los laboratorios de microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

Los resultados fisicoquímicos y microbiológicos obtenidos se compararon con las especificaciones presentes en la Norma Mexicana para humus de lombriz (NMX: FF-109-SCFI-2008) y con resultados de un estudio realizado a un lixiviado obtenido utilizando ***Eisenia andrei***, por el Departamento de Ciencias Ambientales de la Universidad de Guadalajara.

La producción de lixiviado se realizó en la Hacienda San Luis Los Potros, municipio de Huizucar, en el departamento de La Libertad, en el periodo de junio a octubre del 2012.

## **CAPITULO II**

### **OBJETIVOS**

## 2.0 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo General:

- 2.1.1. Determinar parámetros fisicoquímicos y microbiológicos del lixiviado obtenido del estiércol de bovino utilizando *Eisenia foetida* (lombriz roja californiana)

### 2.2 Objetivos Específicos:

- 2.2.1. Preparar el lombricompost del estiércol de bovino por un periodo de nueve semanas a partir de iniciado el proceso de producción.
- 2.2.2. Obtener el lixiviado de lombricompost a la primera, quinta y novena semana. Realizando en cada tiempo los análisis fisicoquímicos de: Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio, pH y densidad.
- 2.2.3. Realizar a los lixiviados obtenidos en cada tiempo los análisis microbiológicos de: coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia Coli* y *Salmonella spp.*
- 2.2.4. Comparar los resultados obtenidos con la Norma Mexicana para humus de lombriz (NMX: FF-109-SCFI-2008) y con resultados de estudio realizado a un lixiviado obtenido utilizando *Eisenia andrei* en el Departamento de Ciencias Ambientales de la Universidad de Guadalajara.

**CAPITULO III**  
**MARCO TEORICO**

## 3.0 MARCO TEORICO

### 3.1 Historia de la Lombricultura <sup>(3) (5)</sup>

Se tiene conocimiento de que la lombriz empezó su evolución hace 700 millones de años, alcanzando su forma actual hace 500 millones de años y al principio de la era secundaria se diversifican en: lombriz de mar, agua dulce y tierra.

En la antigua Grecia, Aristóteles (322-384 A.C.); en su obra "Historia Animalium", no solo trató la primera clasificación de estos seres vivos sino que enunció a través del método inductivo que estos seres eran los intestinos de la tierra y que contribuían a su productividad

En Egipto, se les consideraba un animal valioso por contribuir a la fertilidad del suelo, al grado de castigar con la pena de muerte a la persona que exportara lombrices a otras tierras. Los Incas en el antiguo Perú, ya apreciaban la importancia de estas especies en las tierras del cultivo; incluso uno de los valles más fértiles y sagrado para los Incas fue llamado Urumba, en honor a la lombriz, ya que es una palabra compuesta de origen Quechua; Urur lombriz y bamba valle (valle de lombrices).

Fue Carl Von Linneo (1707-1773), en su obra "sistema natural" (1758), por primera vez incluyó una especie de lombriz, ***Lombricus terrestris***.

En el siglo XVIII, el reverendo Gilbert White, realizó estudios con la lombriz; posteriormente Charles Darwin (1809-1882), dedico 40 años al estudio de este anélido y publicó un libro referente a la formación de materia orgánica (humus) a través de la acción de lombrices.

La técnica de Lombricultura mejoró (1930-1936) en Los Ángeles, Estados Unidos, por el Dr. Tomas Barret quien logro domesticar lombrices; después de

observarlos por 10 años de estudios publico el libro “Harnessing the earth worm” (utilización de la lombriz).

El cultivo de las lombrices nació y se desarrolló en Norte América. El hermano del expresidente Jimmy Carter, el señor Hugg Carter, (1947), personaje simpático y un poco excéntrico, estableció su primer criadero en un ataúd, tenía la capacidad de suministrar a las tiendas de caza y pesca 15 millones de lombrices al año; de esta forma, la Lombricultura se fue difundiendo en Europa, Asia y América. Righi, 1979, la estudió en Argentina y en Brasil; en 1884-1889, Colombia mencionaba el uso de las lombrices de tierra y en 1991, introdujo el híbrido ***Eisenia foetida Sav.*** , conocida como lombriz roja californiana.

Legall, (1993), menciona la lombricultura en Nicaragua y probablemente en estos mismos años se introdujo al resto de países de Centro América, como una alternativa para el reciclaje de grandes masas de desechos orgánicos.

Hoy se conocen aproximadamente 8.000 variedades de lombrices, pero sólo 3.500 de ellas han sido estudiadas y clasificadas. De estas 3.500 variedades, unas pocas han sido domesticadas y adaptadas para realizar en criaderos, la función que en forma natural realizan en la tierra, trabajando en forma intensiva y generando valiosos productos para la agricultura orgánica actual.

De las especies domesticadas, sin duda la que ha dado mejor resultado es la ***Eisenia foetida***, variedad que encontramos en los principales criaderos de lombrices de Europa, Estados Unidos y Japón, que son países donde mayormente se han desarrollado esta actividad.

### 3.2 Características de la ***Eisenia foetida*** <sup>(3) (5) (8)</sup>

En general, la lombriz está clasificada en el Reino Animal como anélido terrestre, de la Clase de los Oligoquetos, siendo su hábitat el ambiente húmedo, no aceptando la luz. Este anélido es hermafrodita insuficiente, siendo bisexual

que necesita aparearse para reproducirse, dotado de 5 corazones y 6 riñones. Esta es una de las razones por las que, si se parte una lombriz en dos, una de las dos partes sobrevive, precisamente la parte anterior, la que tiene la boca.

La ***Eisenia foetida*** es una lombriz extraordinariamente prolifera, muy vivaz, trabajadora, resistente al estrés, tal vez como ninguna otra, y que se ha logrado hacer trabajar en densidades de 50.000 a 60.000 lombrices por metro cuadrado, cifra que ninguna lombriz salvaje está en condiciones de resistir.

Vive en cautiverio sin moverse de su lecho, madura sexualmente entre el segundo y tercer mes de vida, depositando cada 7 a 10 días una cápsula con un contenido promedio de 10 huevos, pudiendo llegar a 20, los que después de 14 a 21 días de incubación eclosionan, originando lombrices en condiciones de moverse y nutrirse de inmediato.

Acepta con gran voracidad todo tipo de desechos agropecuarios (rastros de cultivos, residuos de hortalizas y frutas, malezas, etc.) También puede utilizar desechos orgánicos de la industria, la ciudad, mataderos y otros.

La lombriz roja vive normalmente en zonas de clima templado. Su temperatura corporal oscila entre los 19 y los 20°C.

Esta variedad de lombriz es una excelente recuperadora orgánica, siendo muy voraz, su color es rojo y adulto alcanza un largo promedio entre 7 y 10 centímetros, con un diámetro de 2 a 3 milímetros y un peso promedio de 1 gramo.

La taxonomía de la lombriz roja californiana, es la siguiente:

Cuadro N°1: Clasificación taxonómica de *Eisenia foetida*

Tipo:	Anélido
Clase:	Oligoqueto
Orden:	Opisthoro
Familia:	Lombricidae
Género:	<b><i>Eisenia</i></b>
Especie:	<b><i>foetida</i></b>
Nombre común:	Lombriz roja californiana, lombriz de tierra roja californiana

### 3.2.1 Características externas de la Lombriz Roja Californiana <sup>(3) (5) (9)</sup>

**Simetría:** Bilateral.

**Forma:** El cuerpo de las lombrices tiene una forma cilíndrica, pero también pueden existir secciones cuadrangulares, la sección posterior puede ser achatada, la superficie dorsal surcada a lo largo.

**Color:** *Eisenia foetida* tiene un color rojizo intenso, razón por la cual se le conoce con el nombre de Roja Californiana, el color no siempre lo determina el pigmento en la piel de la lombriz, sino a veces la sangre o el contenido del intestino.

**Segmentos:** Llamados también metámeros, son los anillos que conforman el cuerpo de la lombriz, con un total de 95.

**Boca:** En el anillo 1, sin dientes ni mandíbulas (succiona), lóbulo carnoso o prostomio (espolón)

**Cutícula:** Pared exterior que recubre la epidermis posee glándulas en todos los anillos que secretan mucus, lo que permite su humedad y flexibilidad.



**Surcos intersegmentarios:** Son surcos con forma de anillos, los cuales se encuentran entre segmentos sucesivos y se pueden reconocer en la pared del cuerpo de la lombriz por el menor espesor del epitelio e intervención de la musculatura circular.

**Quetas o cerdas:** Son estructuras primordialmente locomotoras formadas en invaginaciones de la piel. Es uno de los principales caracteres taxonómicos externos. Están presentes dos ventrales y dos laterales entre los anillos 2 y 94. Se encuentra ausente en la última porción del cuerpo, la cual no se enumera como segmentos, el Pigidio.

**Nefridioporo:** Abertura excretora con ubicación lateroventral a cada lado de los anillos 4 a 94.

**Poro dorsal:** Ubicado entre los anillos 8 – 9 y 95, comunica la cavidad del cuerpo y el exterior del surco de cada anillo.

**Receptáculos seminales:** Ubicados en la parte lateral de los surcos entre anillos 9 –10 y 10 –11.

**Conductos espermáticos pares:** Son los conductos que transportan el semen, ubicados ventralmente en el anillo 15.

**Poros de células sensitivas:** Ubicadas en todos los anillos.

**Clitelo:** Órgano que cumple funciones reproductivas, ubicado entre los anillos 32 y 37. Es un espesamiento glandular, superficial. Se encarga de secretar la sustancia que forma los capullos, cocones o cápsula donde se alojan los huevos. Puede tener una forma anular, es decir que envuelve completamente los segmentos en los cuales se encuentran o tienen la forma de una silla de montar cuando no envuelve la parte ventral de los segmentos.

**Ano:** Abertura oval y vertical ubicada en el anillo 95.

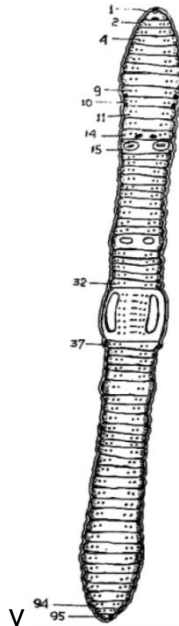


Figura N°1: Morfología externa de *Eisenia foetida*

### 3.2.2 Características anatómicas <sup>(5)</sup> (9)

**Tabiques:** Llamados también septos; son paredes que separan los segmentos sucesivos y están formados por el peritoneo.

**Faringe:** Es el primer compartimiento después de la boca.

**Molleja:** Parte gruesa musculosa del tubo digestivo. Puede ser molleja esofágica o puede estar situada al comienzo del intestino llamada molleja intestinal.

**Glándulas de morren:** Su función es metabolizar el calcio. Están ubicadas en el esófago.

**Intestino:** Se reconoce fácilmente por la presencia de válvulas.

**Ciegos intestinales:** Apéndices huecos, terminados en forma de saco que aparecen al fondo del intestino.

**Nefridios:** Órgano central del sistema excretor. Funciona como pequeño riñón. Se llaman holonefridios cuando tienen un par de nefridios por segmento y meronefridios cuando tienen más de un par de nefridios por segmento.

**Vasos dorsal y ventral:** Ubicado sobre el tubo digestivo. El vaso dorsal y el ventral debajo de éste, son los más importantes en el sistema circulatorio.

**Vaso supra-intestinal y supra esofágico:** Son vasos impares no siempre presentes. Se encuentran entre el esófago, intestino y el vaso dorsal.

**Vasos extra-esofágico o latero-esofágico:** Situados a los lados del esófago y entre éste y los corazones.

**Corazones:** Situados en la región esofágica del cuerpo ligando los vasos y están en pares y en un total de cinco y manda la sangre al vaso ventral.

**Testículos:** Ubicados en los segmentos 10 y 11 y en uno o en pares cada uno; situados en cavidad celómicas aisladas los reservorios de esperma.

**Canales deferentes:** Permiten la salida de los espermatozoides y son uno para cada testículo.

**Vesículas seminales:** Están en tres pares de bolsas laterales que abarcan los segmentos 9, 10 y 11.

**Ovarios:** Generalmente sólo son un par, entonces las lombrices se denominan metaginadas. Es poco frecuente cuando las lombrices tienen dos pares, en este caso se denominan hologénicas. Se encuentran ubicados en el segmento 13 y descargan los huevos en la cavidad celómica.

**Ovisacos:** Son ovaginaciones pares del tabique posterior al segmento que contiene el ovario.

**Espermatecas:** Sacos que reciben los espermatozoides de la otra lombriz durante la cópula, es extraño cuando no están presentes.

### **Aparato digestivo**

Es de forma tubular y de forma recta. Tiene un canal alimenticio muy completo; posee una abertura anterior, llamada boca y una posterior llamada ano. A lo largo de él tiene varios compartimientos, comenzando con la boca o cavidad bucal, luego le sigue una faringe musculosa, la cual segrega un mucus que sirve para humedecer el alimento; le sigue el esófago y dentro de éste se encuentra el buche que sirve como almacenamiento temporal de alimento, humedeciéndolo y ablandándolo previamente. La lombriz roja no tiene dientes.

Después, el alimento pasa a la molleja, donde es triturado, preparándolo para la digestión y absorción que finalmente se realiza en el intestino. Aquí se segregan algunas enzimas como pepsina y tripsina que actúan sobre las grasas y amilasa sobre los carbohidratos. Las glándulas calcíferas, las cuales segregan carbonato de calcio. Esta sustancia tiene la propiedad de neutralizar los ácidos de los alimentos. Si la acidez es muy elevada no puede neutralizarlos y pueden morir intoxicadas de “goso ácido”. Los alimentos son absorbidos por el torrente sanguíneo y los que no se pueden digerir son excretados por el ano. Las lombrices diariamente consumen una cantidad de alimento equivalente a su peso corporal.

La lombriz de tierra tiene dos estómagos; uno anterior de pared delgada y uno posterior de pared gruesa.

### **Aparato circulatorio**

La sangre circula a través de vasos, entre los segmentos 7 y 11 se conectan los vasos dorsal y ventral. A través de los 4 corazones llamados también arcos aórticos se envía la sangre a través de los vasos ventrales, a la parte posterior

del cuerpo de la lombriz y de los vasos dorsales hacia la parte delantera. Tiene un sistema circulatorio cerrado, formado por tubos (arterias y venas); los movimientos peristálticos de éstos mueven eficientemente la sangre, ésta se dirige hacia la piel, intestino, nefridios, músculos, etc.

Los conductos parietales y vasos capilares realizan la misma función. En la piel, la sangre recoge oxígeno y elimina bióxido de carbono, entrega a los órganos nutrientes provenientes del intestino y oxígeno a los tejidos, recoge líquidos de desechos y los abandona en los nefridios y elimina bióxido de carbono por medio de la difusión.

### **Aparato neurosensorial**

La lombriz carece de ojos, posee en la piel células fotosensibles; es sensitiva a la luz y al estar expuesta mucho tiempo a ella, muere. El sentido del tacto se encuentra en la epidermis y éste es el centro de los nervios.

Las células neurosensoriales le permiten percibir vibraciones que le provocan estrés y la hacen reaccionar a la temperatura. A lo largo de la epidermis hay nervios especializados en responder al pH. También posee órganos gustativos que le permiten distinguir diferentes tipos de alimento.

### **Sistema respiratorio**

Al ondear rítmicamente el cuerpo, la lombriz ventila la superficie. La falta de oxígeno hace que ella saque la mayor parte de área posterior de su cuerpo y aumenta el movimiento de ventilación; el intercambio gaseoso ocurre en la superficie del cuerpo a través de una red fina de capilares cerca de la cutícula. Para realizar este proceso, la piel debe estar siempre húmeda; ya que si se deshidrata muere instantáneamente.

**Sistema excretor**

El problema de eliminar los desechos líquidos, lo realiza a través de una red de estructuras llamadas nefridios, éstos se encuentran de dos en dos en casi todos los segmentos del cuerpo; comprende un embudo ciliado, ubicado en la cavidad celómica anterior al vientre y comunicada mediante un tubo con el exterior del cuerpo. Todo residuo es eliminado por la cavidad celómica y otra parte a través de la corriente sanguínea.

**Sistema nervioso**

Es más desarrollado que en los gusanos de trompa; al conjunto bilobulado de células nerviosas se les llama cerebro, ubicado en el tercer segmento, en el cuarto segmento, debajo de la faringe, está otro llamado ganglio subfaríngeo; ambos regulan toda la actividad de la lombriz; estos dos ganglios están unidos por un anillo nervioso, del ganglio inferior sale un cordón nervioso que recorre todo el cuerpo; debajo del tubo digestivo, irrigando los músculos.

Los órganos del tercer y cuarto segmento a través de los ganglios segmentarios, se encargan del movimiento de la lombriz a través de impulsos nerviosos que llegan por medio de axones gigantes.

**Sistema reproductor**

La lombriz de tierra es hermafrodita; es decir que poseen los dos sexos, masculinos y femeninos. El sistema reproductor masculino está conformado por dos pares de testículos ubicados entre los segmentos 10 y 11. Los espermatozoides producidos son almacenados en reservorios y vesículas seminales; de los cuales salen los embudos espermáticos en forma par y los llevan a través de dos conductos espermáticos a los poros masculinos, en la cara ventral del segmento 15, allí salen los espermatozoides durante la cópula. Cuenta también con receptáculos seminales o espermáticos que son unos

sacos que reciben el semen de la otra lombriz ubicados en los segmentos 9 y 10.

El sistema reproductor femenino está formado por dos pares de ovarios, ubicados entre los segmentos 13 y 14, su finalidad es la de producir óvulos, éstos son recogidos por embudos ovulares que los llevan por oviductos y salen a través de poros femeninos.

La lombriz, durante la cópula, se sitúa en sentido opuesto, quedando unida por unas secreciones mucosas del clitelo ubicado en el segmento 32 al 37 y aquí se encarga de secretar sustancias que forman los capullos donde se alojan los huevos; y posteriormente se forman dentro de ellos, diminutos gusanos.

Algunas especies representan partenogénesis uniparental, con autofecundación, que puede ser facultativa u obligada. La mayoría tiene reproducción biparental. La reproducción de la lombriz tiene lugar durante todo el año, cuando las condiciones son apropiadas los jóvenes alcanzan su madurez sexual a los tres meses; tiempo que coincide con la formación del clitelo, ocupando de 6 a 8 segmentos. Cada lombriz adulta puede depositar un huevo que eclosiona al cabo de 3 semanas y de éste emergen entre 2 y 20 estados juveniles, están listas para reproducirse, a los 3 meses. La lombriz tiene un promedio de vida de 16 años, aunque algunos autores confirman que ***E. foetida*** dura 4.5 años de vida.

### 3.3 Razones de elección de ***Eisenia foetida*** <sup>(3) (5)</sup>

- a) En muchos países del mundo se ha experimentado con ella, en diferentes condiciones de clima y altitud, viviendo en cautiverio sin fugarse de su lecho.
- b) Es muy prolífera, madurando sexualmente entre el segundo y tercer mes de vida. Y su longevidad está próxima a los 16 años.

- c) Su capacidad reproductiva es muy elevada, la población puede duplicarse cada 45-60 días. 1,000,000 de lombrices al cabo de un año se convierten en 12,000,000 y en dos años en 144,000,000. Durante este periodo habrán transformado 240,000 toneladas de residuos orgánicos en 150,000 toneladas de humus.
- d) Se alimenta con mucha voracidad, consumiendo todo tipo de desechos agropecuarios (estiércoles, residuos agrícolas, etc.) y desechos orgánicos de la industria.
- e) Produce enormes cantidades de humus y de carne de lombriz por hectárea como ninguna otra actividad zootécnica lo logra.
- f) Elevada capacidad de regeneración de sus tejidos, son motivos de investigación para la aplicación en el ser humano.

#### **3.4 Aspectos generales de la producción y manejo de la Lombriz Roja Californiana (*Eisenia Foetida*). <sup>(5)</sup>**

**Ubicación:** La producción de lombrices puede ser ubicada en cualquier parte, siendo preferiblemente en un lugar de fácil acceso para las normales operaciones de riego y de distribución de alimento, siempre que este lugar esté lo suficientemente aireado y lejos de fuentes directas de calor y de frío.

**Temperatura:** Para poder lograr una rápida y uniforme reproducción la temperatura del sustrato o lugar donde viven las lombrices debe estar entre 16 y 28 °C. Hay que tener cuidado con la acumulación de material sin previa descomposición, ya que se aumenta el calor y puede ser crítico para las lombrices.

**Humedad:** La humedad en el sustrato se debe mantener entre un 70 a 80%, ya que la lombriz no tiene dientes, por esto debemos darle humedad para que pueda absorber su alimento como una pequeña aspiradora.



**pH:** El pH óptimo que debe tener el sustrato para la crianza de las lombrices se encuentra entre el neutro o ligeramente alcalino, con un rango que puede variar entre 4.5 a 8. Esto se puede lograr midiendo el pH del alimento que será dado a las lombrices utilizando papel tornasol o un pHmetro..

**Luz:** La lombriz roja no tolera la luz y los rayos ultravioleta la mata. Por esta razón, la iluminación natural o artificial, no tiene que incidir en su hábitat.

Cuadro N° 2: Parámetros que alteran el desarrollo de *Eisenia foetida*

EFFECTO PARÁMETRO	EFFECTO						
	MUERTE	LETARGO	PRODUCE HUMUS	FASE OPTIMA	PRODUCE HUMUS	LETARGO	MUERTE
pH	<5	6.5	6.8	7.5	8	8.5	>9
Temperatura (°C)	0	7	14	19-20	27	33	>42
Humedad (%)	<50	75	80	82.5	85	88	>90

### 3.4.1 Manejo de lombricultivo <sup>(3) (5) (9)</sup>

Por manejo del lombricultivo se entiende todas aquellas actividades que se llevan a cabo para lograr en el menor tiempo posible la mejor conversión de los desechos utilizados como alimento de la lombriz, así como también el manejo de las condiciones ambientales para lograr un mayor crecimiento del pie de cría utilizado.

#### **Pie de cría**

Se denomina pío de cría a la cantidad de lombrices necesarias en cuanto a eso, o en cuanto a número que nos permite efectuar una siembra y nos facilite obtener una población de lombrices fuertes para ser cultivadas, teniendo en cuenta el material acompañante (sustrato) que le sirve de hábitat y alimento.

La velocidad de transformación del sustrato depende de la cantidad de lombrices. Cuando se desea un proceso rápido, la densidad de lombrices debe de ser alta, alrededor de 5 Kg de lombriz por metro cuadrado.

### **Densidad de la población**

Se define como la cantidad de individuos presentes por unidad de área. La densidad de población de un cultivo de lombrices puede llegar a su clímax por unidad de área cuando las condiciones para su desarrollo son óptimas, o sea, cuando encuentran todos los requerimientos nutricionales para su desarrollo. Cuando en un área pequeña hay alta densidad de población los alimentos comienzan a escasear y el espacio vital se reduce dominando los individuos más fuertes y mejor adaptados. En estos casos puede observarse migraciones de las poblaciones adultas, escasez de huevos y abundante presencia de juveniles en el cultivo, entre otros fenómenos. Siempre que sean capaces de proporcionar a un cultivo las condiciones de pH, temperatura y humedad óptima, se puede encontrar como mínimo de 20,000 a 30,000 lombrices por metro cuadrado, aunque algunas experiencias han reportado valores de 40,000 a 60,000 lombrices por metro cuadrado.

El número de lombrices por área se determina mediante un muestreo de población, para lo cual se realiza un muestreo utilizando un monolito, que es un instrumento utilizado para sacar muestras, con él se puede extraer un bloque del material a muestrear de la profundidad de 0 - 10 cm con un área de 20 x 20 cm (400 cm<sup>2</sup>).

En la muestra se cuentan las lombrices adultas, juveniles y los capullos. Los datos se deben expresar en m<sup>2</sup> ya que en toda la bibliografía esta viene dada en esa unidad y de esta forma se puede establecer comparaciones. Para llevar datos de un área de 400 cm<sup>2</sup> a 1 m<sup>2</sup> solo se necesita multiplicar los valores obtenidos por 25 esto es:

N° de adultas x 25 = Adultas \ m<sup>2</sup>

N° de juveniles x 25 = Juveniles \ m<sup>2</sup>

N° de capullos x 25 = Capullos \ m<sup>2</sup>

El muestreo se debe realizar en los canteros y canoas para determinar la cantidad de lombrices y capullos. Las muestras se deben sacar una de cada uno de los extremos del cantero y la canoa en dependencia del tamaño y siempre en horario de la mañana. Aunque se recomienda estas medidas, esto no quiere decir que no se pueda utilizar otras medidas, la única condición es que éste tenga 10 cm de alto y conocer su área. El muestreo periódico de la población de lombrices, sobre todo cuando se practica el cultivo a mediana o gran escala resulta importante, porque mediante él podemos detectar o deducir cualquier problema que esté afectando el desarrollo del cultivo, rectificarlo y ganar en eficiencia. La lombriz no habla, pero reacciona de diferentes formas ante condiciones adversas. El resultado de estas reacciones son los que se encuentran en los muestreos que realizamos. El estadio juvenil de las lombrices como se ha dicho es el más resistente, por lo que si al revisar un cultivo de lombrices existe un predominio absoluto de juveniles, con la casi o no existencia de adultas y capullos, estaremos en presencia con toda seguridad de un cultivo con problemas en su condición. Se considera que un cultivo de lombrices no presenta problemas si al realizar el muestreo de población se encuentra un 60% de las lombrices en el estado juvenil, el 40% en el estadio adulto, y se encuentran más de 500 capullos por metro cuadrado.

El proceso de adecuación del alimento es una operación de suma importancia pues de él depende la eficiencia del cultivo y en algunos casos determina su fracaso.

En general el alimento para que sea ingerido por la lombriz debe tener las siguientes características:

- Un pH alrededor del neutro.
- Un grado de humedad que permita su ingestión.
- No presencia de sustancias tóxicas o dañinas.

Para comprobar si el residual cumple con los parámetros para ser ingerido por la lombriz, se realiza una prueba que se conoce con el nombre de prueba de caja.

**La prueba de caja:** es una prueba biológica donde se utiliza la lombriz como animal de ensayo. Esta se realiza para conocer el estado de la excreta que se va a aplicar, ya que no basta conocer que el pH sea adecuado, a veces hay sustancias químicas que no alteran el pH y que son perjudiciales para las lombrices, como por ejemplo los pesticidas.

Esta prueba consiste en colocar 50 lombrices en una caja de madera u otro material con el alimento que se va a proporcionar a la lombriz en los canteros o canoas. A las 24 horas se deben contar las lombrices vivas y si hay más de 49, el alimento puede utilizarse.

La prueba de caja es de obligatorio cumplimiento antes de proceder a la alimentación de canteros y canoas. De no realizarse pueden ocurrir accidentes catastróficos en el cultivo.

También puede comprobarse la calidad del alimento, colocando una porción de éste sobre la superficie del cantero o lecho, si las lombrices comienzan a ingerirlo en un tiempo mínimo significa que está en condiciones necesarias de humedad y temperatura que la lombriz necesita para su crecimiento óptimo, de no ser así se debe continuar el proceso de adecuación.

**Sistema de siembra:** El lombricultivo se inicia depositando el pie de cría en las camas, asegurando que esta capa inicial sea aproximadamente de 10 a 15 cm.

Si es necesario para completar esta altura, se puede depositar en el fondo de la cama, estiércol descompuesto y luego colocar encima el pie de cría. Otra metodología es colocar una capa de 10cm. de zacate seco en el fondo y luego colocar la lombriz comercial encima (con todo y sustrato) y por último colocar una capa de 5 cm. de sustrato alimenticio. Así se asegura que la lombriz disponga de un medio para refugiarse si las condiciones del alimento no son adecuadas.

Cuando el sustrato es el adecuado, la lombriz lo acepta al cabo de 24 horas. El alimento deberá ser proporcionado en capas de 5 a 10 cm. si el pie de cría es el adecuado esta cantidad será consumida en 2 a 4 días. Por lo anterior el alimento deberá ser proporcionado de acuerdo a la demanda de la lombriz.

**Alimentación:** La calidad del alimento proporcionado es de gran importancia para lograr el éxito en la crianza de lombrices, si el alimento proporcionado es de óptima calidad, se asegura la rápida producción del pie de cría y la transformación del sustrato, aumentando con ello el desarrollo y cantidad de lombrices en un corto tiempo.

Los materiales utilizados como alimento para las lombrices deben tener las siguientes características:

- a) Materia orgánica biodegradable.
- b) No contener sustancias tóxicas como ácido en el caso de la gallinaza, insecticidas y/o pesticidas.
- c) Para que el alimento sea aceptado inmediatamente por las lombrices deberá tener un adecuado proceso de maduración. El proceso de maduración del sustrato está relacionado con el estado de descomposición del mismo y de

condiciones tales como: pH, y la temperatura, que son de los factores más importantes que afectan el crecimiento de la lombriz.

### 3.4.2 Tipos de sustratos para la alimentación de lombrices <sup>(3) (5)</sup>

La base de la alimentación de las lombrices se conoce como sustrato, el cual se coloca en el lecho y estas lo transforman en humus.

Independientemente de cuál sea la sustancia orgánica que se desee utilizar ésta debe de tener un contenido en celulosa no inferior a un 20-25%, en forma de paja triturada, papel o cartón, por ejemplo. El sustrato además de contener el material celulósico debe poseer vitaminas y minerales esenciales para asegurar un adecuado crecimiento a las lombrices. Según el clima, el espesor del sustrato básico varía pudiendo llegar hasta 50 cm.

Los sustratos que más se utilizan son los estiércoles y que en su mayoría proceden de explotaciones intensivas zootécnicas; sin embargo, los estiércoles de aves, en general no son aconsejables, debido a su fuerte acidez producida en el período de maduración. A continuación se describen algunas características de los sustratos más comúnmente utilizados para la alimentación de las lombrices.

**Estiércol de bovino:** Es muy bueno, utilizable también como sustrato inicial y como alimento durante la producción el período mínimo aconsejable de envejecimiento es de 6 meses, pero es más fácil encontrarse con un pH adecuado, cuando este período ha sido de 7 meses. El estiércol de bovino contiene 1.42% de nitrógeno, 0.18% de fósforo, 4% de potasio y 0.262% de manganeso.

**Estiércol de cerdo:** Requiere ser mezclado con fibra vegetal larga para reducir su concentración proteica y hacerlo más esponjoso.

**Desechos de hortalizas:** Al descomponerse se transforman en una especie de papilla a la cual la lombriz no puede acceder fácilmente. Es preciso incorporar fibra vegetal larga para mejorar el alimento.

**Aserrines y virutas:** Se deben preferir aquellos que provienen de maderas blancas. Los que se originan de maderas rojas contienen un alto porcentaje de taninos y lignina. El tanino es un veneno que puede matar a la lombriz. Como norma general, se recomienda incorporar fibra vegetal larga a todo tipo de aserrines y virutas de maderas, dado que la alta concentración de microorganismos que contienen los estiércoles permite acelerar el rompimiento de la molécula de la lignina acelerando la descomposición del material

### **3.4.3 Frecuencia y cantidad de alimento proporcionado** <sup>(3) (9)</sup>

La cantidad de alimento se puede estimar de acuerdo a la densidad de lombrices en un área determinada, tomando como base la cantidad de alimento que consume diariamente la lombriz y a su tasa de reproducción. Como norma práctica se recomienda chequear una o dos veces si hay alimento, pues las densidades de lombrices van a variar en el tiempo, es recomendable que el alimento sea de un espesor de no más de 5 cm. y 30-50cm. de ancho. Luego se riega el alimento para permitir la distribución de agua al resto de la cama y atraer la lombriz a ese punto. (Amador, 1997).

### **3.4.4 Necesidades de humedad y frecuencia de riego** <sup>(5) (9)</sup>

El alimento se prepara antes de llevarlo a las camas de lombrices, remojándolo si es necesario hasta que, estando totalmente humedecido no drene. Este corresponde aproximadamente a un rango del 80 a 85% de humedad. Una humedad superior al 85% es muy dañina para las lombrices, haciendo que disminuyan su reproducción; no obstante, la lombriz puede vivir temporalmente en mucha humedad pero no trabaja ni se reproduce. El riego es una actividad que debe efectuarse cada vez que el módulo o lecho lo requiera, no hay que

exagerar con la cantidad; es mejor regar dos veces al día con poco agua, que hacerlo una sola vez con demasiada.

### **3.4.5 Trastornos fisiológicos** <sup>(3) (9)</sup>

**Gosso ácido:** Es la intoxicación provocada por un exceso o un déficit de proteínas en el alimento, también se observa cuando existen alteraciones físico químicas por la presencia de pesticidas u otros agentes nocivos. Las lombrices afectadas presentaran entre otros síntomas, movimientos rápidos tratando de escapar y disminución posterior de este haciéndose lento y pesado, Inflamación de la región clitelar y necrosis, en la mayoría de los casos aparecen contracciones y abultamientos a todo lo largo del cuerpo del animal y en otros casos se mostrarán blanduzcas pudiendo morir. A las lombrices más utilizadas en la Lombricultura no son hospederos intermediarios, ni vectores de parásitos dañinos a los animales ni al hombre.

### **3.4.6 Enemigos naturales** <sup>(5)</sup>

Los enemigos naturales, entre los que se encuentran: ranas, aves e invertebrados como: Planarias (depredadoras de las lombrices), Mancaperros, Ciempiés, Hormigas, y otros de menor cuantía. En este proceso participan muchos organismos que colonizan este sustrato por diversos motivos, realizando múltiples funciones como: alimentarse de la materia orgánica ejemplo; las cochinillas, pequeñas larvas o insectos que son detritófagos compiten con la lombriz por el alimento sin causar daños directamente, otros depredadores, invertebrados o microorganismos descomponen la materia orgánica, utilizan el sustrato como escondrijo, etc. En fin cohabitan con las lombrices sin hacerles daño en condiciones normales, (si las condiciones son adecuadas para las lombrices). Estos organismos se conocen como fauna asociada.



### 3.5 Escalas de Producción de lombricultivo <sup>(3) (9)</sup>

**Doméstica o popular:** Sólo se requiere de algunas cajas, cajones o cualquier recipiente de madera u otro material que se puede mantener en cualquier lugar de la casa o en el patio, con el propósito de utilizar como alimento para las lombrices los residuos de cocina y otros desperdicios que se originan en el propio hogar y emplear el producto (humus y lombrices) en el huerto, jardín, macetas o en la alimentación de los animales domésticos.

**Pequeña o Mediana escala:** Se ubica en los predios del propio productor y su objetivo fundamental es reciclar residuos de cosecha, estiércoles de animales o residuos agrícolas industriales, para obtener el humus de lombriz con fines de fertilización de los cultivos del propio productor.

**Gran escala o comercial:** La producción se realiza a gran escala, cuya finalidad es obtener humus de lombriz y comercializarlo con las empresas agrícolas nacionales e internacionales, En general estas unidades poseen en explotación de más de 500m<sup>2</sup> de canteros de cultivo directo.

### 3.6 Productos de la lombricultura <sup>(3) (5) (9)</sup>

#### 3.6.1 Lombricompost

El lombricompost, vermicompost o humus de lombriz es un apreciable producto, resultado de la ingestión y digestión de diferentes residuos orgánicos por parte de la lombriz de tierra. Por un proceso que consiste en la bio-oxidación y estabilización de los sustratos orgánicos a través de la acción descomponedora conjunta de lombrices y microorganismos, que lo convierten en un material humificado y mineralizado (Martínez 1996, Domínguez et al. 1997, Bollo 1999).

Las deyecciones de la lombriz poseen una riqueza en flora bacteriana muy buena y grande, con cerca de  $2 \times 10^{12}$  colonias g<sup>-1</sup> de humus producido, en vez de los pocos centenares de millones presentes en la misma cantidad de

estiércol fermentado. Ello permite la producción de enzimas importantes para la evolución de la materia orgánica cuando este material es aplicado al suelo (Ferruzi 1986).

El humus de lombriz está compuesto por C, O<sub>2</sub>, N, así como macro y micro nutrientes en diferentes proporciones, tales como Ca, Mg, K, P, Fe, Mn y Zn entre otros. Los contenidos finales por tonelada de material dependerán básicamente de la fuente de origen y la humedad del material cuando el proceso finaliza (Fraile y Obando 1994).

Desde el punto de vista microbiológico, se ha puntualizado que el vermicompost posee una gran riqueza de microorganismos así como un efecto supresor sobre algunos patógenos del suelo (Ramírez 1996, Domínguez et al. 1997). Estudios realizados por Werner y Cuevas (1996) muestran la ausencia de patógenos humanos como genero *Salmonella*, y *E. coli* según el tipo de microorganismos presente en los materiales.

Algunos autores mencionan que las propiedades nutricionales del vermicompost pueden variar mucho entre sí (Werner y Cuevas 1996, Ferruzi 1986, Bollo 1999). Esto se debe a los tipos de desecho utilizados, las proporciones de cada uno, el estado de descomposición de estos materiales, las condiciones en las cuales se lleve a cabo el vermicompostaje y el tiempo de almacenamiento (Chacón y Blanco 1999).

Ferruzi (1986) y Martínez (1996), concuerdan en que el conjunto de características químicas, físicas, y microbiológicas, son las que determinarán la calidad final y en consecuencia el uso apropiado de estos productos en los diferentes cultivos.

**Descripción:** Es un fertilizante biorgánico, de aspecto esponjoso, suave, ligero, granular. Posee óptima actividad fitohormonal, que junto con el pH apropiado y una amplia gama de macro y micronutrientes, se traduce en un aumento del

porcentaje de germinación de la semilla, velocidad de crecimiento de las plántulas y mejoría en el estado vegetativo de éstas. El humus de lombriz es un excelente mejorador de las condiciones biológicas, físicas y químicas del suelo.

El humus después de cosechado es necesario beneficiarlo, para lo cual se realizan las siguientes operaciones:

**Secado:** Debe realizarse al aire libre preferiblemente fuera del alcance del sol y hasta una humedad del 45%, aunque si se va a utilizar máquina para su aplicación la humedad recomendada es de 30%, en este caso muchos prefieren secarlo al sol.

**Tamizado:** El tamizado depende del propósito de uso, si es para fertilizar frutales y arboles perennes, es posible utilizarlo sin tamizar o pasarlo por una malla de 6mm, si se pretende fertilizar vegetales y otros cultivos temporales entonces es recomendable pasarlo por malla 2mm debido a las exigencias nutricionales de estos cultivos.

Trabajos experimentales han demostrado que el tamaño de partícula de humus de lombriz más efectivo para liberar elementos nutritivos es de 2mm lo que relacionan con el hecho de que la mayor parte de los elementos nutritivos contenidos en el humus se encuentran débilmente unidos a los ácidos orgánicos poco polimerizados disueltos en el agua de humectación.

### **3.6.2 Carne de lombriz**

La carne de las lombrices tiene un alto contenido de proteína (68-82%) y de aminoácidos esenciales; algunos investigadores señalan que la proteína de la lombriz roja californiana es de 58 a 71%, en base a materia seca y que el contenido de la materia seca es de 13-20%. La carne de lombriz se emplea tanto en la alimentación humana como en la animal. Aunque su riqueza mineral es inferior a las harinas de pescado y su contenido en fibra es muy reducido.

Entre las especies animales que apetecen la carne de lombriz roja como alimento están: peces, cerdos y aves de corral.

En la alimentación de animales, utilizando en las raciones alimenticias, la lombriz como fuente de proteína, crecen iguales o mejores que aquellos que utilizan una alimentación convencional. Sin embargo el retorno financiero juega un papel importante para la producción de carne con respecto a la producción de humus.

La ventaja de la proteína de la lombriz es que su síntesis ocurre en base a desechos orgánicos y fuentes de células. Un m<sup>2</sup> anualmente produce 12-48 kg de carne de lombriz.

La carne de lombriz es un recurso económico importante al tratarse de un alimento rico en proteínas y de fácil producción.

A lo largo de miles de años, diferentes pueblos de África y China encontraron en la carne de lombriz un complemento nutricional que ayudó a sostener a su población.

Podría ser considerado como un alimento para los países en vías de desarrollo; ya que una parte puede ser destinada a la continuidad del criadero y la otra a la elaboración de harina.

### **3.6.3 Harina de lombriz**

La harina de lombrices se ha evaluado en alimentación de peces, cerdos, aves, ranas y otras especies animales, incluyendo la humana. La conversión alimenticia utilizando harina de lombriz, es mayor que la convencional.

Esta harina es superior que la harina de carne de res. Algunas personas la han evaluado en alimento de alevines y encontraron buenos resultados con una

dieta de 15% de harina de lombriz, 10% de harina de pescado y 75% de harina de arroz, obteniendo las mejores ganancias en peso.

Si la cosecha de lombriz se destina a la producción de harina, es necesario separar las lombrices de su medio empleando una malla de alambre tejido y posteriormente someterlas a baños especiales para eliminar bacterias y hongos indeseables.

Por último son secadas al sol y molidas. El resultado final es un polvo de color amarillento que contiene de 60-82% de proteína animal. Es necesario de 8-10 Kg de lombrices vivas para producir 1 Kg de harina.

Para elaborar harina de lombriz:

Se debe retrasar el alimento por lo menos cuatro días, para luego brindar alimento en forma gradual. Las lombrices suben a la superficie y se cosecha una capa de 7 a 9 cm; allí estarán el 90% de lombrices.

Se hace la recolección y el lavado de las lombrices y se agrega a una solución salina al 1% a 38-42°C, para remover todo material que las lombrices tengan en su estómago.

Se secan las lombrices, ya sea al sol o con secadoras a temperaturas de 30 a 50°C; este proceso debe ser rápido ya que la piel de ellas es muy porosa y delgada para la producción de harina.

#### **3.6.4 Lixiviado de lombriz**

El lixiviado de lombriz es uno de los productos que se obtienen al cambiar el proceso tecnológico en la cría de la lombriz roja californiana.

La utilización de éste proceso está basado en la teoría de que nada se destruye todo se transforma en otro elemento de características muy superiores si se le sigue una secuencia lógica al proceso.

Su composición orgánica está basada en el contenido de ácidos húmicos, producto de la descomposición regulada del estiércol de bovino por parte de la lombriz y está integrada por ácidos húmicos, fúlvicos, urónicos, melánicos e himatomelánicos. Además allí se encuentran aminoácidos y fitohormonas, los cuales están presentes en la misma composición de los desechos orgánicos minerales en el proceso de compostaje.

Al tener dentro de su composición factores de crecimiento como auxinas; hormonas permite una mayor absorción de elementos nutritivos en las plantas, lo que repercute en un aumento del índice foliar y por lo tanto una mayor producción y productividad de las plantas.

Hay distintas formas de obtener este lixiviado:

- a) Mezclando 1 parte de humus y 5 parte de agua, se deja reposar 48 horas, se agita periódicamente. Luego se filtra. Para utilizarlo se debe volver a diluir en 1 parte de concentrado en 4 partes de agua.
- b) Se disuelve 1 parte de humus en 10 partes de agua, mezclandolo y dejándola reposar unas 48 horas. Luego se filtra y se aplica (3; 5).
- c) Llamado té de lombricompuesto. Se pone el lombricompuesto en una bolsa de arpillera y luego ésta en agua. Agitar de vez en cuando. Para su uso, el té debe ser de un color ambarino ligero. Si es más oscuro que ese, diluya en agua.
- d) En un módulo se deposita los desechos orgánicos y las lombrices: a medida que se riega para mantener la humedad hay una pérdida de agua más una cantidad de nutrientes, microorganismos, etc.

El lixiviado obtenido de estiércol de ovinos utilizado como alimento para las lombrices ha demostrado ser una excelente fuente de potasio es de 2,4 gramos por litro y de nitrógeno 61 miligramos por litro (61 ppm) conteniendo además hierro, manganeso, cobre y zinc micro nutrientes esenciales .

Además los fertilizantes líquidos elaborados con extracto de humus de lombriz de tierra aportan ácidos húmicos y fúlvicos, microorganismos vivos propios para la nitrificación y solubilización de minerales enlatados en el suelo.

Aplicado al suelo o a la planta actúa como racionalizante de fertilización ya que hace asimilables en todo su espectro a los macro y micro nutrientes, evitando la concentración de sales. Crea además un medio ideal para la proliferación de organismos benéficos, bacterias, hongos, etc. Que impiden el desarrollo de patógenos, reduciendo sensiblemente el riesgo en el desarrollo de enfermedades. Además, estimula la humificación propia del suelo ya que incorpora y descompone los residuos vegetales presentes en el suelo.

### **3.7 Generalidades de microbiología** <sup>(7) (12)</sup>

En la superficie de las plantas en crecimiento existe una flora microbiana típica que se puede contaminar por el aporte de microorganismos de procedencia extraña. La contaminación por los animales se da debido a los microorganismos que proceden de su flora superficial, de la flora de sus vías respiratorias y de la flora de su tubo gastrointestinal. La flora microbiana propia de la superficie corporal de los animales productores de carne no suele tener tanta importancia como los microorganismos contaminantes del tubo intestinal y de las vías respiratorias. Las heces y los alimentos de origen animal contaminados por las mismas pueden contener diversos microorganismos entéricos, incluso del género **Salmonella**. La salmonelosis de los animales puede ser la causa de que se contaminen los productos y subproductos animales y, de este modo contaminar con **Salmonella** los alimentos derivados de los mismos.

Los animales, desde las formas más sencillas a las más evolucionadas, aportan al suelo y al agua, y a las plantas que crecen en estos medios, sus excretas y

finalmente su propio organismo. Se ha prestado poca atención a esta forma de contaminación directa de las plantas utilizadas como alimento.

Cuando en el abonado de los cultivos se utilizan aguas residuales domésticas sin tratar, aguas naturales superficiales o subterráneas, existe la posibilidad de que los alimentos recién cosechados estén contaminados por microorganismos patógenos para el hombre, sobre todo por aquellos que producen trastornos gastrointestinales. En algunas partes del mundo todavía se emplea como abono el contenido de las letrinas. Además de la posibilidad de que los alimentos estén contaminados con patógenos procedentes de las aguas residuales, o de aguas naturales, también los pueden contaminar otros microorganismos de esta misma procedencia, como por ejemplo bacterias coliformes, bacterias anaerobias, enterococos, otras bacterias intestinales y virus. Las aguas naturales contaminadas con aguas residuales aportan microorganismos a los alimentos con lo que tiene contacto.

La contaminación fecal de los alimentos que ingiere el hombre puede incorporar una variedad de organismos patógenos intestinales bacterianos, virales y parasitarios cuya presencia está relacionada con enfermedades de tipo microbiano que pueden existir en ese momento en la comunidad.

### 3.7.1 Salmonelosis

La salmonelosis puede ser consecuencia de la ingestión de células viables pertenecientes a una especie del género **Salmonella**. Se trata de la infección bacteriana de origen alimentario que se presenta con mayor frecuencia. Además del síndrome típico de las intoxicaciones salmonelósicas de origen alimentario, tras la ingestión de salmonelas se pueden presentar otros dos síndromes de enfermedad, y de aquí que en la Tabla 3 se comparen entre sí.

Las infecciones por **Salmonella** a las que se les califica de intoxicaciones alimentarias pueden ser producidas por gran número de serovares (tabla 3). Por



lo general, la bacteria infectante se ha multiplicado en el alimento hasta alcanzar cifras elevadas, aumentando de esta forma la posibilidad que se produzca la infección, y con frecuencia originando brotes de enfermedad en familias o en otros grupos de mayor número de personas. En contraposición, otros patógenos intestinales, tales como los microorganismos que producen disenterías y las fiebres tifoidea y paratifoidea, antes de la aparición de los síntomas, suelen tener un período de incubación de mayor duración y, excepto cuando se trata de epidemias, solo se presenta en forma de casos aislados.

### **El microorganismo**

Las salmonellas son bacilos gramnegativos asporógenos que fermentan la glucosa, generalmente con producción de gas, pero normalmente no fermentan ni la lactosa ni la sacarosa. Lo mismo que ocurre en otras bacterias, cuando el medio de cultivo es apropiado, crecen dentro de intervalos de temperaturas y de pH más amplios que cuando se trata de un medio de cultivo con escasez de nutrientes. Por ejemplo las temperaturas mínimas de crecimiento en los alimentos oscilan desde 6,7 a 7,8 °C en el pollo hasta más de 10°C en la crema de pastelería y en la ensalada de jamón. Su temperatura máxima de crecimiento es de unos 45,6 °C. Las salmonellas crecen bien a temperatura ambiente, si bien su temperatura óptima de crecimiento es de aproximadamente 37°C. El intervalo de pH de crecimiento se halla comprendido entre los valores 4,1 y 9,0, multiplicándose por lo tanto, en alimentos de baja acidez.

### **Fuentes de *Salmonella spp.***

A pesar que la *Salmonella spp.* tradicionalmente se pensó en el pasado en que están asociadas con productos de origen animal, productos frescos también han sido la fuente de brotes importantes, sobre todo recientemente. El organismo también sobrevive bien en los alimentos de baja humedad, tales como especias, que han sido los vehículos de grandes brotes.

Cuadro N°3 Enfermedades producidas por el género **Salmonella**

Enfermedad	Agente Causal	Periodo de incubación, signos y síntomas	Origen reservorio y epidemiología
Salmonelosis	<b>Salmonella choleraesuis, enteritidis, typhimurium, infantis</b> , etc.	De 7 a 72 horas, normalmente de 12 a 36 horas; diarrea, dolor abdominal, escalofríos, fiebre, vómitos, deshidratación, abatimiento, anorexia	Heces infectadas de los animales, domésticos o salvajes, y de las personas; son más sensibles los niños, los ancianos, las personas mal alimentadas; el estado de portador suele durar desde algunos días a algunas semanas.
Fiebre tifoidea (fiebre entérica)	<b>Salmonella typhi</b>	De 7 a 28 días, con una media de 14 días; en los brotes de origen alimentario el periodo de incubación puede ser más corto; hay septicemia y está afectado el tejido linfoide; malestar, fiebre alta y persistente, tos, anorexia, vómitos, estreñimiento, pulso lento, abdomen sensible y distendido, hemorragias nasales, escalofríos, delirio, diarrea, hemorragias intestinales.	Heces y orina de las personas infectadas; en la transmisión, son importantes los portadores; el agua también interviene en la transmisión
Fiebre paratifoidea (fiebre entérica)	<b>Salmonella enteritidis, paratyphi A, paratyphi B, Paratyphi C, sendai</b>	De 1 a 15 días; infección de la sangre; cefalagia, fiebre persistente, sudoración abundante, náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea.	Heces y orina de las personas infectadas; los portadores son importantes en la transmisión

La ***Salmonella spp.*** también puede proceder de los gatos, de los perros, de los cerdos, y de los bovinos, aunque las fuentes más importantes de ***Salmonella spp.*** de los alimentos son las aves y sus huevos y los roedores. Los pollos, los pavos, los patos, y los gansos pueden resultar infectados con cualquiera de los numerosos tipos de ***Salmonella***, los cuales, en caso de infección de estas aves, se encuentran en las heces, en los huevos de gallina, y en la carne de las canales. Aproximadamente la tercera parte de los alimentos implicados en los brotes de salmonelosis son carnes y productos derivados de las aves. Las bacterias del género ***Salmonella*** están ampliamente extendidas en la naturaleza. También pueden vivir en ambientes tales como estanques de sedimentación de agua. Se propaga a través de la vía fecal-oral, y por el contacto con aguas contaminadas. (Ciertos protozoos pueden actuar como un reservorio para el organismo). Puede, por ejemplo, contaminar la carne, agua de riego de fincas (por lo tanto, contaminación de los productos en el campo), el suelo, insectos, las manos, superficies y utensilios de cocina.

### 3.7.2 Coliformes y grupo de coliformes fecales

Los coliformes son bacilos cortos que se han definido como bacterias aerobias o anaerobias facultativas que fermentan la lactosa con producción de gas. Las principales especies de bacterias coliformes son ***Escherichia coli*** y ***Enterobacter aerogenes***; no obstante las especies que es posible que se ajusten a estos criterios, son más de veinte, encontrándose dentro de las mismas especies de otros géneros de la familia Enterobacteriaceae e incluso especies de Aeromonas. El grupo de coliformes fecales constituye a los coliformes capaces de crecer a temperatura elevada (44,5 ó 45°C). El primer objetivo de las pruebas de incubación a temperatura elevada fue la diferenciación de los coliformes de origen fecal de los que no tienen origen fecal. Las denominaciones “coliforme fecal” y “coliforme” no tienen bacterias capaces de crecer en condiciones experimentales específicas.

Algunas de las propiedades que determinan que las bacterias coliformes sean importantes en las alteraciones que presentan los alimentos son: 1. Su capacidad para crecer en sustratos muy distintos y para utilizar como fuente de energía algunos hidratos de carbono y algunos otros compuestos orgánicos y, como fuente de nitrógeno, algunos compuestos nitrogenados bastante sencillos, 2. Su capacidad para sintetizar la mayoría de vitaminas que necesitan, 3. La capacidad de las bacterias de este grupo para crecer perfectamente dentro de un intervalo de temperaturas bastante amplio, desde temperaturas inferiores a 10°C hasta una temperatura próxima a los 46°C, 4. Su capacidad para producir importantes cantidades de ácido y de gas a partir de azúcares, 5. Su capacidad para producir sabores desagradables, definidos a veces como “a sucio” y 6. La capacidad de *E. aerogenes* para producir mucosidad o viscosidad.

En general se cree que la vía principal de exposición de las bacterias entéricas es por contacto directo con personas infectadas o por contacto con objetos contaminados con heces. Sin embargo, debido a la capacidad del microorganismo para sobrevivir y debido a que solo se requiere de una dosis baja para infectarse, tanto la exposición como las consiguientes infecciones pueden ocurrir por medios menos evidentes, incluso la ingestión de agua potable contaminada. No obstante, en un alimento industrializado, los coliformes indican un tratamiento inadecuado o contaminación posterior al tratamiento, muy probablemente a partir de manipuladores o instrumentos sucios, máquinas o superficies. En todo caso, la contaminación original casi siempre dependerá de heces o aguas residuales.

### **3.7.3 *Escherichia coli***

La *Escherichia coli* es una de las especies intestinales predominantes en el intestino humano y, es parte de la flora intestinal normal, algunas de estas especies proporcionan muchos beneficios de salud, por ejemplo, evitar la colonización del intestino por patógenos dañinos. Sin embargo, hay pequeños

grupos de *E. coli* que pueden causar graves enfermedades diarreicas en los humanos. Varias epidemias infantiles en la década de los 40's implicaron a *E. coli* en la enfermedad diarreica de los niños.

En la actualidad, hay seis grupos reconocidos patógenos: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (CEEA), y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC). De éstos, los primeros cuatro grupos son bien conocidos para ser transmitida a través de alimentos contaminados o agua; las ECEH, sobre todo, a menudo son implicadas en brotes importantes de todo el mundo transmitidas por los alimentos.

En el hombre, los síndromes de enfermedad como consecuencia de la ingestión de EEC se han dividido en dos grupos principales. El primer grupo está integrado por cepas que elaboran una enterotoxina y producen una enfermedad parecida al cólera o enfermedad enterotoxigénica en las personas. Estas cepas enterotoxigénicas suelen producir dos enterotoxinas, una toxina termoestable (ST) y otra termolábil (LT), cayéndose que son las causantes de las enfermedades diarreicas de los niños y de la diarrea del viajero. Para que se desencadenen las enfermedades enterotoxigénicas, se precisa la ingestión de serotipos EEC capaces de elaborar las enterotoxinas, seguida de la colonización de los microorganismos en el tramo superior del intestino delgado y de la producción de enterotoxinas. Parece ser que las enterotoxinas intervienen en el paso de agua a la luz intestinal. Esta acumulación de líquido tiene lugar sin que se produzca ninguna modificación microscópica importante en el epitelio intestinal y sin que exista ni penetración ni invasión de las bacterias.

El otro gran grupo está integrado por cepas invasoras que elaboran una citotoxina y originan una enfermedad invasora, colitis, o un síndrome

disenteriforme. Estos serotipos no elaboran enterotoxina, se multiplican en el colon, e invaden o penetran en las células epiteliales de su mucosa, produciendo los signos y síntomas correspondientes.

Para que se presenten tanto la enfermedad enterotoxigénica como la enfermedad invasora, se necesita una elevada dosis de EEC. Por consiguiente, para que tenga lugar una abundante multiplicación, los alimentos deben estar contaminados masivamente o deben estar incorrectamente conservados o refrigerados. La temperatura óptima de crecimiento del microorganismo es de 37°C, con un intervalo de crecimiento de 10 a 40°C. Su pH óptimo de crecimiento es de 7,0 a 7,5, con un pH mínimo de crecimiento de valor 4,0 y un pH máximo de crecimiento de valor 8,5. Este microorganismo es relativamente termosensible y puede ser destruido con facilidad a temperatura de pasteurización y también mediante la apropiada cocción de los alimentos.

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLOGICO**

## **4.0 DISEÑO METODOLOGICO**

### **4.1 Tipos de estudio**

Para la investigación se llevó a cabo los tipos de estudio:

- Experimental: Debido a que se realizaron prácticas de laboratorio para la determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos.
- Transversal: Porque la investigación se llevó a cabo entre los meses de junio a octubre de 2012.
- Prospectivo: Debido a que es el primer estudio realizado en nuestro país en evaluar los parámetros que se medirán en esta investigación.

### **4.2 Investigación bibliográfica**

Esta se realizó visitando las bibliotecas:

- Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.
- Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA)
- Universidad Centroamericana “José Simeón Cañas” (UCA)
- Internet.

### **4.3 Investigación de campo**

#### **4.3.1 Localización**

El campo experimental se desarrolló en la Hacienda San Luis Los Potros, Cantón Tilapa, municipio de Huizúcar, departamento de La Libertad.



### 4.3.2 Especie a utilizar

Nombre científico: *Eisenia foetida*

Nombre común: Lombriz roja californiana

### 4.3.3 Sustrato utilizado

Se utilizó como sustrato estiércol de bovino proveniente de vacas sanas propiedad de la Hacienda Mendoza ubicada en el Cantón Santa Cruz, municipio de San Cristóbal, departamento de Cuscatlán.

### 4.3.4 Tiempos de análisis

Se realizaron análisis fisicoquímicos y microbiológicos a la primera, quinta y novena semana después de iniciado el proceso de producción del lixiviado.

### 4.3.5 Recolección de sustrato y Lombriz Roja Californiana

El estiércol de bovino necesario como sustrato para la producción de lixiviado se recolectó de forma fresca a partir de vacas lecheras sanas presentes en la propiedad de la Hacienda Mendoza ubicada en el Cantón Santa Cruz en el municipio de San Cristóbal, departamento de Cuscatlán. En este mismo lugar se obtuvieron lombrices de la especie *Eisenia foetida* aptas para reproducirse (lombrices con clitelo desarrollado). El transporte de ambos al campo experimental, se llevó a cabo en horas frescas de la mañana (6:00-8:00 am); para evitar estrés en las lombrices. Se utilizaron jabs plásticas forradas en su interior con plástico negro donde se colocó una porción de estiércol seco humedecido que sirvió como cama para colocar las lombrices, para luego ser tapadas con plástico. Con esto se trató de mantener las condiciones idóneas para la supervivencia de las lombrices durante su transporte.

#### 4.3.6 Preparación de los sustratos

1. Se tomaron lecturas de pH del estiércol de bovino recolectado utilizando papel pH 1-14, verificando que éste se encontrara entre los rangos idóneos de pH (6.8 - 8.0) y temperatura (14 - 27°C) para la supervivencia de la lombriz roja californiana.
2. Se realizó prueba de caja (ver 4.4 b)
3. Debido a que este no cumplió con el pH necesario, ni la prueba de caja, se procedió a realizar los siguientes pasos.
4. Se esparció el estiércol sobre láminas de aluminio formando una capa de 5 cm de espesor.
5. Se realizó cada día un volteo entre la 1:00- 2:00 pm.
6. Se recolectó diariamente en bolsa de nylon de 100 lbs de capacidad entre las 5:00-6:00 pm.
7. Se repitieron los pasos 2-4 durante 15 días con el mismo estiércol, para procurar que el sustrato este apto para el consumo de la lombriz, y que cumpla con la prueba de caja (ver 4.4 b).

#### 4.3.7 Instalación y Equipo

El trabajo inició con la construcción de un campo experimental con los requerimientos necesarios para la producción de lixiviado, para lo que en el interior de la habitación se construyeron seis filas de tabancos que sostienen las jabas donde se desarrolló el vermiabono. Estos estaban conectados por una serie de canales ubicados de manera que el lixiviado drenado de las jabas ubicadas en las seis filas de tabancos llegue a un punto en común donde se colocó el recibidero, así también, la instalación posee en su construcción materiales que mantienen las condiciones requeridas para la supervivencia de lombrices de la especie *Eisenia foetida* utilizadas en la producción del abono. Entre las condiciones que se controlaron están: evitar la entrada de luz al interior de la habitación, mantener una temperatura ideal (14-27°C) para la

supervivencia de las lombrices, para lo cual, las paredes de la planta de producción de abono fueron de madera, el techo se construyó con lámina especial (Marca: Zinalum) para evitar temperaturas elevadas en el interior de la habitación.

Se utilizaron solamente dos filas de tabancos donde se colocaron en cada fila 5 jabas plásticas con dimensiones de 50x32x36cm para la producción de vermiabono, donde a medida se fue regando, se drenaba un líquido, como subproducto en la producción de humus; el lixiviado. El cual se transportó por medio de un canal que por gravedad llevó el líquido a un depósito común plástico (recibidero), desde cada una de las 10 jabas plásticas.

#### **4.4 Plan de manejo de lombricultivo**

##### **a) Inoculación de lombrices en el sustrato**

Antes de la inoculación de las lombrices se prepararon las cajas plásticas colocando en el interior de cada una, un forro de plástico negro, al cual se le abrieron agujeros en la parte del fondo, para facilitar la salida de lixiviado. Se colocaron 10 lbs de sustrato (cantidad necesaria para 5cm de altura de sustrato) en cada jaba plástica. Se midieron las siguientes condiciones: Humedad (por el método de puño), pH (papel pH de rango 1-14) y temperatura (termómetro de mercurio).

##### **b) Prueba de adaptación (Prueba de caja)**

Previo a la inoculación se realizó una prueba de supervivencia. Esta prueba consistió en colocar 50 lombrices por caja con el sustrato que se va a proporcionar a la lombriz. A las 24 horas se verificó si el sustrato era aceptado por las lombrices; se deben contar las lombrices vivas y si hay 49 o más, el alimento puede utilizarse. Luego se procedió a la inoculación definitiva colocando 1Kg de lombrices (aproximadamente 1000 lombrices) por caja.

### **c) Alimentación de las lombrices**

Doce días después de la inoculación se realizó la primera alimentación, colocando una ración de 10 lbs de estiércol de bovino por caja. Las siguientes alimentaciones se realizaron según el consumo de sustrato, con el criterio de alimentar cuando se ha consumido más del 80% de la ración anterior. Se realizó nuevamente control de humedad (ver anexo N°14), pH y temperatura ya con la nueva ración de alimento.

### **d) Riego**

Este se aplicó diariamente en forma cernida a cada una de las cajas con una regadera metálica de 10 litros de capacidad, para mantener la humedad adecuada (80-85%). Se verificó después de cada riego la humedad por el método de puño (ver anexo N°14). El lixiviado drenado de las cajas plásticas se recolectó en un recipiente común, y a éste se le realizó los análisis fisicoquímicos de: Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio, pH y densidad, y los análisis microbiológicos de: coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, en la primera, quinta y novena semana, a partir de iniciado el proceso de producción.

## **4.5 Parte Experimental**

### **4.5.1 Recolección de muestras para análisis fisicoquímicos y microbiológicos**

Una vez obtenido el lixiviado se determinaron algunos parámetros para medir su calidad fisicoquímica y microbiológica a la primera, quinta y novena semana, después de iniciado el proceso de producción, de la siguiente manera:

Los lixiviados de la primera semana, se obtuvieron drenando el agua de riego utilizada para los pies de cría de lombriz roja californiana durante una semana, estos se colectaron del recibidero con previa agitación, tomando 2 litros de

lixiviado y se colocaron en un envase plástico para la muestra “lixiviado 1”. Los lixiviados adicionales de la quinta semana se obtuvieron drenando durante cuatro semanas los lixiviados de la primera semana mezclados con agua utilizada en el riego, estos se colectaron con previa agitación, tomando del recipiente, 2 litros de lixiviado y se colocaron en un envase plástico para la muestra “lixiviado 2”. Los lixiviados de la novena semana se obtuvieron drenando durante un periodo de cuatro semanas los lixiviados de la quinta semana mezclados con agua utilizada en el riego. Estos se colectaron con previa agitación, se tomó del recipiente 2 litros, colocándolos en un envase plástico para la muestra “lixiviado 3”.

A partir de las muestras colectadas a los 30 minutos de haber realizado la toma, se tomó un litro de cada lixiviado (500 mL para cada análisis) y se envió a cada uno de los laboratorios (para análisis fisicoquímico: CENTA y para análisis microbiológico: CENSALUD) con las condiciones requeridas (manteniendo una temperatura de aproximadamente 4°C). La muestra para el análisis microbiológico se colocó en un envase plástico estéril, mientras para el análisis fisicoquímico en un envase plástico limpio. El litro sobrante en cada muestreo se almacena en envase plástico rotulando “muestra de retención de tiempo “x” (según el lixiviado que sea)”.

#### **4.5.2 Metodologías de análisis fisicoquímico**

##### **Determinación de Nitrógeno Total <sup>(1)</sup>**

1. Pesar 0.50g de muestra previamente homogenizada en un beaker de 1 mL
2. Colocar la muestra con beaker de 1 mL en un balón de macro Kjeldahl de 800 mL.
3. Agregar 1.00 g de ácido salicílico, luego agregar un sobre Kel-Pack (10.00g de sulfato de potasio y 0.70g de óxido de mercurio).
4. Agregar 40 mL de ácido sulfúrico concentrado.

5. Colocar en equipo macro Kjeldahl para la digestión durante 90 minutos o hasta completar la digestión (con el cuidado de estar agitando periódicamente los balones),
6. Dejar enfriar, disolver con 275 mL de agua utilizando baño de hielo.
7. Luego pasar esta solución a un tubo destilador.
8. Adicionar 10 mL de NaOH 10N
9. Colocar en equipo destilador y destilar hasta recibir unos 300 mL, recibir en un erlenmeyer que contenga 50 mL de una solución de ácido bórico al 4% y adicionar 2 mL de indicador (rojo de metilo en verde de bromocresol).
10. Luego el Nitrógeno Amoniacal se titula utilizando con HCl 0.05N. el punto de equivalencia de la titulación ocurre cuando la solución vira de verde a rosado.

### **Determinación de Calcio, Magnesio, Fósforo y Potasio <sup>(1)</sup>**

#### **Preparación de Solución Madre**

1. Colocar en una capsula de porcelana tarada, 15.00 g de muestra.
2. Colocar a evaporación a 70°C, hasta llevar a sequedad.
3. Colocar en mufla a 600°C por 6 horas.
4. Agregar 3.0 mL de HCl concentrado y evaporar completamente
5. Luego agregar 13 mL de una mezcla (3 mL de agua y 10 mL de HCl concentrado), evaporar hasta obtener  $\frac{3}{4}$  partes.
6. Enfriar y filtrar. Recibir el filtrado en un balón de 100.0 mL luego aforar con agua. Se tiene la solución madre que contiene Calcio, Magnesio, Fósforo y Potasio.

#### **Determinación de Fósforo. Por método espectrofotometría UV-VIS <sup>(1)</sup>**

1. Preparar estándares de 0, 2.5, 5, 10, 15 y 20 ppm de Fósforo.

2. Tomar una alícuota de 5.0 mL de la solución madre y colocarla en un tubo de ensayo. De la misma manera colocar 5.0 mL de cada una de las soluciones estándar antes preparadas en tubos de ensayo diferentes.
3. Agregar 2.0 mL de reactivo mixto (volúmenes iguales de molibdato de amonio al 5% y vanadato de amonio al 0,25%) a cada uno de los tubos.
4. Tapar, agitar y dejar reposar por unos 15 minutos
5. Leer en espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 420nm. (realizar lectura por duplicado).

#### **Determinación de Calcio y Magnesio. Por método de Absorción Atómica <sup>(1)</sup>**

1. Encender el equipo unos 30 minutos antes de analizar la muestra.
2. Instalar la lámpara para el elemento que deseemos analizar y establecer la longitud de onda específica para el elemento (Calcio: 422.7 nm y Magnesio: 285.2nm).
3. Alinear la lámpara para que pase el haz de luz y así se optimice la energía.
4. Optimizar la longitud de onda hasta obtener la ganancia máxima de energía.
5. Conectar y ajustar el flujo de acetileno y encender la llama.
6. Aspirar un blanco compuesto por agua desionizada y llevar a cero el equipo.
7. Aspirar el estándar respectivo (Calcio: 1,2 y 4 ppm, Magnesio: 0.1, 0.3 y 0.5ppm) y ajustar la velocidad de aspiración del nebulizador para obtener la sensibilidad máxima.
8. Aspirar nuevamente un blanco y poner a cero el instrumento.
9. Aspirar el estándar próximo al medio del intervalo lineal y registrar la absorbancia.
10. Tomar muestra directamente de la solución madre, Aspirar, y registrar la absorbancia. Realizar lecturas por duplicado.

**Determinación de Potasio <sup>(1)</sup>**

1. Seguir el mismo procedimiento que para determinación de Calcio y Magnesio, con la única diferencia de programar el equipo a modo de emisión en lugar de absorción.
2. Leer a una longitud de onda de 766.5nm de tres estándares. Los usados son de concentraciones de: 10, 20 y 40ppm.

**Determinación de pH - Método potenciométrico <sup>(1)</sup>**

1. Remover el electrodo de la solución de almacenamiento, lavar y secar con paño suave.
2. Calibrar el equipo con soluciones buffers de pH 4, 7 y 10 a una temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  teniendo el cuidado de lavar y secar el electrodo.
3. Introducir el electrodo en la muestra contenida en un beaker de 50 mL a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  para realizar la lectura.
4. Registrar el valor de pH.

**Determinación de la Densidad <sup>(1)</sup>**

1. Pesar un balón volumétrico de 10.0 mL vacío previamente en un balanza analítica y registrar el peso.
2. Colocar la muestra en el balón hasta marca de aforo.
3. Pesar el balón con la muestra a una temperatura de  $20.0^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$  y registrar el peso.
4. Realizar los cálculos para determinar la densidad de la muestra mediante la siguiente formula.

$$\text{Densidad} = \frac{(\text{peso balon con muestra}(g)) - (\text{peso balon vacio}(g))}{10.0 \text{ mL}}$$



### 4.5.3 Metodologías de análisis microbiológico <sup>(2)</sup>

#### Recuento de coliformes totales por el método de tubos múltiples

1. Se prepara una serie de 5 tubos conteniendo 10 mL de caldo Rapid Hicoliform de doble concentración y 2 series de 5 tubos con 10 mL de caldo Rapid Hicoliform de concentración simple. Colocar en una gradilla y codificar los tubos anotando el número asignado a la muestra.
2. Preparar una dilución de la muestra tomando 10.0 mL de la muestra y adicionándolos a un frasco que contiene 90 mL de agua peptonada.
3. Inocular 10 mL de la dilución de la muestra en los 5 tubos de concentración doble de caldo Rapid Hicoliform.
4. Inocular 1 mL de la dilución de la muestra en una serie de 5 tubos de concentración simple del caldo.
5. Inocular 0.1 mL de la dilución de la muestra en otra serie de 5 tubos con caldo de concentración simple.
6. Incubar los tubos por 24 a 48 horas a 35 °C. Los tubos positivos (con viraje de color a azul-verdoso), indican presencia de coliformes totales.

**NOTA:** Se pueden seguir haciendo más diluciones dependiendo de la contaminación del Lixiviado. (Para las diluciones se toman 10.0 mL de muestra y se colocan en 90.0 mL de diluyente).

#### Coliformes fecales

7. De los tubos positivos de Caldo Rapid Hicoliform pasar a Caldo EC con un asa bacteriológica e incubar a  $44.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  por 24-48 horas. Después del período de incubación los tubos con presencia de gas y turbidez indica prueba positiva para coliformes fecales.

### ***Escherichia coli***

8. Tomar una muestra de los tubos de Caldo EC positivos con un asa y estriar en agar EMB, incubar a una temperatura de  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por un tiempo de 18 a 24 horas.
9. La formación de colonias grandes, color negro azulado con brillo verde metálico nos indica la presencia de ***E coli***.

Nota: El número de tubos positivos se comparó con la tabla de NMP respectiva (ver anexo N°11)

### **Determinación de *Salmonella spp.***

1. Pipetear 25.0 mL de muestra de lixiviado y colocarlos en un erlenmeyer que contenga 225 mL de Caldo Lactosado. Homogenizar el contenido
2. Incubar a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.
3. Tomar una alícuota de 1.0 mL de la solución anterior, transferirlo a un tubo que contenga 10 mL de Tetrionato, y una alícuota de 0.1mL, transferirlo a otro tubo que contenga 10 mL de medio Rappaport.
4. Incubar los dos tubos anteriores, el que contiene medio Rappaport a  $42 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  y el que contiene medio Tetrionato a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.
5. Con un asa estéril tomar una muestra de la suspensión de Tetrionato y de Rapaport, estriar en una placa de agar XLD y en una de agar Rambach divididas en dos partes e incubar a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.
6. Observar el crecimiento de las colonias con las siguientes características: precipitado negro en el centro de las colonias característico de las colonias de ***Salmonella spp.***

Nota: agar XLD, colonias con precipitado negro en el centro de las colonias, característico de las colonias de ***Salmonella spp.***  
Agar Rambach: cambio de coloración del medio a rojo, con colonias rojas.

7. Realizar pruebas bioquímicas para la confirmación de la presencia de ***Salmonella spp.*** en la muestra analizada.

### Pruebas bioquímicas

1. Tomar con un asa estéril de las colonias formadas una porción de ellas e inocular en medio TSI e incubar a 35-37 °C por 24 horas. Observar crecimiento de ***Salmonella spp.***: bisel (rojo) y fondo (amarillo).
2. Luego del crecimiento de ***Salmonella spp.*** en medio TSI, inocular en cada uno de los 5 tubos que contienen 5 mL de los medios: Citrato, Movilidad, Indol, Rojo de Metilo, Voges Proskauer.
  - **Citrato**: inocular en profundidad y superficie. Incubar a 37°C por 48 horas. Reacción positiva: viraje del color verde a azul.
  - **Movilidad**: los microorganismos inmóviles solo crecen en la línea de siembra y los móviles se reconocen por su desarrollo difuso alejado de la línea de inoculación. La prueba de movilidad debe dar positiva para indicar presencia de ***Salmonella spp.***
  - **Indol**: producción de un anillo rojo al agregar el reactivo de Indol.
  - **Rojo de metilo**: inocular un tubo de Rojo de Metilo incubar a 37°C por 48 horas, agregar 5 gotas de reactivo Rojo de Metilo. La presencia debe dar reacción positiva: color rojo.
  - **Voges Proskauer (VP)**: inocular un tubo de caldo VP, incubar a 37°C por 48 horas, transferir 1.0 mL de este cultivo a otro tubo agregar 0.6 mL de solución de naftol y 0.2 mL de solución de KOH al 40%. Agitar. Observar después de dos horas. Reacción positiva: desarrollo de coloración rosada, Reacción negativa: color café pardo.

## **CAPITULO V**

### **RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

## 5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Esta investigación cuenta con poca información que sea un referente que nos permita comparar los resultados obtenidos. No se tiene una normativa nacional ni internacional que regule la calidad fisicoquímica y microbiológica de un lixiviado de lombriz, por lo que se tuvo la necesidad de comparar los resultados obtenidos con la Norma Mexicana para humus de lombriz (NMX-FF-SCFI-2008) y con los resultados de un estudio realizado a un lixiviado obtenido a partir de estiércol de bovino utilizando *Eisenia andrei*, en el Departamento de Ciencias Ambientales de la Universidad de Guadalajara. Cabe resaltar que la Norma Mexicana utilizada para la comparación de los resultados en esta investigación, presenta especificaciones de grado de calidad fisicoquímica y microbiológica para una muestra de naturaleza completamente diferente a la naturaleza del lixiviado de estiércol de bovino.

A continuación se presentan los resultados siguiendo el orden de los objetivos específicos presentados.

### 5.1 Preparación del lombricompost

La preparación del lombricompost del estiércol de bovino por un periodo de nueve semanas a partir de iniciado el proceso de producción, se realizó de junio a octubre del 2012. El estiércol de bovino que se utilizó como sustrato no pasó la “prueba de caja”, por lo que se tuvo la necesidad de realizar un compostaje (ver 4.3.6) al sustrato por 15 días antes de iniciar el proceso de producción. A este estiércol que sufrió compostaje se le volvió a realizar “prueba de caja”, donde se verificó que no se tenía menos de 49 lombrices vivas después de 24 horas después de iniciada la prueba, determinando que el sustrato estaba apto para el consumo de la lombriz <sup>(3)</sup>.

A partir de la primera alimentación de las lombrices se empezó a observar diferencia en el sustrato mientras la lombriz roja californiana iba consumiéndolo.

Inicialmente el sustrato presentaba color verde oscuro, textura pastosa, y olor característico a estiércol de bovino. Pero posteriormente tomaba una apariencia de sólido suelto de color café oscuro, y olor menos desagradable. Se determinó que la cantidad de alimento necesaria a suministrar por jaba, era de 10 libras de sustrato (aproximadamente 5 cm de altura) cada dos semanas, ya que aproximadamente el 80% del sustrato había sido consumido por la *Eisenia foetida*, en ese tiempo. Las plagas generaron problemas al inicio de la investigación de campo, una de ellas fueron las hormigas, pero se combatieron colocando plaguicida químico sintético (marca: folidol) en el suelo entre las patas de los tabancos, bastó con una sola aplicación del producto en seco. También se tuvo cuidado de mantener la humedad (80-85%, tomada por medio de método de puño) del sustrato donde permanecía la lombriz, ya que la hormiga no llegaba al sustrato debido a esta condición.

## **5.2 Obtención de lixiviados y realización de análisis fisicoquímico**

En la obtención del lixiviado de lombricompost a la primera, quinta y novena semana y realización de los análisis fisicoquímicos de: Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio, pH y Densidad. Al realizar el riego el primer día de producción de lombricompost (inoculación de lombrices en sustrato), no se obtuvo lixiviado, sino hasta el segundo día; pero no era la cantidad necesaria para realizar un muestreo. Este lixiviado inicialmente presentaba un ligero color café ámbar, el cual iba aumentando su intensidad conforme pasaban los días. Después de transcurridos cinco días, se tenía una cantidad aproximada de dos litros de lixiviado, la cual era suficiente para hacer el primer muestreo para los análisis fisicoquímicos y microbiológicos (500 mL por cada análisis), y para dejar una muestra de retención (1 litro de lixiviado). No quedó remanente del lixiviado obtenido de la primera semana, por lo que no se pudo recircular en el sistema.

Como se puede verificar en la Tabla N°1, el lixiviado de la primera semana ya posee una cantidad considerable de los principales macroelementos necesarios para el buen desarrollo de una planta. Presentándose en mayor cantidad Potasio, seguido por Nitrógeno, Calcio, Magnesio, y en menor cantidad Fósforo. El valor de pH obtenido es muy fuertemente alcalino <sup>(3)</sup> y tiene una densidad muy cercana a la del agua a 25 °C (0.9970 g/mL).

Se puede decir que en la primera semana con los riegos efectuados, se drenaron macroelementos en forma soluble presentes en el sustrato.

Tabla N° 1: Resultados fisicoquímicos de lixiviado obtenido en la primera semana

<b>Repetición</b>	<b>% N</b>	<b>ppm P</b>	<b>ppm K</b>	<b>ppm Ca</b>	<b>ppm Mg</b>	<b>pH (25°C)</b>	<b>Densidad g/mL (25°C)</b>
1	0.080	93.790	3,400.000	250.000	240.000	9.35	1.0093
2	0.110	116.090	3,200.000	240.000	220.000	9.45	1.0095
Promedio	0.095	104.940	3,300.000	245.000	230.000	9.40	1.0094
Nota: Los resultados de los elementos obtenidos en el análisis se reportaron con tres cifras significativas tomando como base el dato reportado de Nitrogeno que presentaba tres cifras significativas en el certificado de análisis.							

Se siguió regando el sustrato por cuatro semanas más. En la quinta semana después de iniciado el proceso de producción, se obtuvo un lixiviado con una intensidad de color ámbar más fuerte, comparado con el lixiviado obtenido en la primera semana, además éste presentaba una precipitación de color café (probablemente debido al aumento en el contenido de materia orgánica).

Como se puede observar en la Tabla N° 2 existe un aumento considerable en la cantidad de Potasio y Nitrógeno en este lixiviado. Se observa un leve incremento en la cantidad de Calcio y Magnesio, y en el promedio de Fósforo, se observa una pequeña reducción en las cantidades de este elemento. El pH y

la densidad no tienen un cambio considerable. Es de recordar que el lixiviado de primera semana no se pudo recircular, por lo que se puede decir que probablemente la cantidad de Fósforo en forma soluble en el sustrato se vio disminuida.

Tabla N° 2: Resultados fisicoquímicos de lixiviado obtenido en la quinta semana

<b>Repetición</b>	<b>% N</b>	<b>ppm P</b>	<b>ppm K</b>	<b>ppm Ca</b>	<b>ppm Mg</b>	<b>pH (25°C)</b>	<b>Densidad g/mL (25°C)</b>
1	0.120	109.480	4,500.000	300.000	260.000	9.3	1.0185
2	0.190	87.710	4,500.000	200.000	230.000	9.3	1.0194
Promedio	0.155	98.595	4,500.000	250.000	240.000	9.3	1.0189

El lixiviado remanente de la quinta semana se diluyó con agua, éste se recirculó por medio de riego en las siguientes cuatro semanas. El lixiviado obtenido en la novena semana de producción presentaba casi la misma intensidad de color ámbar que el lixiviado de la quinta semana, pero presentaba una mayor cantidad de precipitado café (probablemente debido al aumento en el porcentaje de materia orgánica).

Como se puede observar en la Tabla N° 3 existe un aumento considerable en las cantidades de Calcio, Magnesio, Fósforo y Potasio con respecto a los lixiviados de primera y quinta semana. En el caso de Nitrógeno, se observa una menor cantidad de este elemento comparado con la que presenta el lixiviado de cinco semanas, pero mayor cantidad que el lixiviado de la primera semana. La cantidad de Nitrógeno se ve disminuida probablemente debido a que este elemento es muy inestable, y pudo haber sufrido una volatilización. El aumento de las cantidades de los otros macroelementos, probablemente se debió a la presencia una mayor cantidad de estos elementos en forma soluble en el humus, debido a que se recirculó el lixiviado de la quinta semana en el sistema,



y también la actividad de la lombriz roja californiana pudo contribuir con dicho incremento.

Tabla N° 3: Resultados fisicoquímicos de lixiviado obtenido en la novena semana

Repetición	% N	ppm P	ppm K	Ppm Ca	ppm Mg	pH (25°C)	Densidad g/mL (25°C)
1	0.120	495.000	4,900.000	1,000.000	300.000	9.2	1.0027
2	0.120	462.000	4,800.000	900.000	300.000	9.4	1.0035
Promedio	0.120	478.500	4,850.000	950.000	300.000	9.3	1.0031

Para una mejor comprensión, en la Tabla N°4 se puede observar una tabla comparativa de los promedios de cantidades de los elementos analizados elementos presentes por tiempo de muestreo.

Tabla N° 4: Promedios de cantidades presentes de elementos por tiempo de muestreo.

Muestra	% N	mg/Kg P	mg/Kg K	mg/Kg Ca	mg/Kg Mg	pH (25°C)	Densidad g/mL (25°C)
Semana 1	0.095	104.940	3,300.000	240.000	230.000	9.4	1.0094
Semana 5	0.155	98.595	4,500.000	250.000	240.000	9.3	1.0189
Semana 9	0.120	478.500	4,850.000	950.000	300.000	9.3	1.0031

Al observar los resultados fisicoquímicos presentados en los tres tiempos de análisis, podemos decir que a medida el lixiviado de lombriz madura, las cantidades de macroelementos presentes en el lixiviado sufren aumentos considerables, a excepción del Nitrógeno que probablemente debido a diversos factores como el calor, pudo haber sufrido volatilización a medida va pasando el tiempo.

### 5.3 Análisis microbiológicos al lixiviado en cada tiempo

En la realización de los análisis microbiológicos de: coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia Coli* y *Salmonella spp.*, a los lixiviados obtenidos en cada tiempo. En la Tabla N°5 se presentan los resultados microbiológicos obtenidos en cada uno de los tiempos en que se analizó el lixiviado, se observa que los resultados de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* fueron similares en los tres tiempos (>16,000 NMP/100mL). Esto es debido a que no se realizó la cantidad de diluciones necesarias para determinar que tanto mayor a 16,000 NMP/100mL se encontraban presentes estos microorganismos. En la determinación de *Salmonella spp.*, un microorganismo patógeno, el resultado muestra la ausencia de ésta en los tres tiempos de análisis. Con estos resultados no se puede concluir que la lombriz roja californiana cause o no, una disminución en la cantidad de los microorganismos presentes en el lixiviado, comparando los lixiviados en los tres tiempos analizados.

Tabla N°5: Resultados microbiológicos obtenidos en semana uno, semana cinco y semana nueve

Determinación	Semana 1	Semana 5	Semana 9
Bacterias coliformes totales	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL
Bacterias coliformes fecales	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL
<i>Escherichia coli</i>	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia

#### 5.4 Comparación de los resultados con la Norma Mexicana (NMX: FF-109-SCFI-2008) y con estudio de la Universidad de Guadalajara.

Como se observa en la Tabla N°6, al comparar los valores de Nitrógeno obtenidos en los tres tiempos de análisis para lixiviado de estiércol de bovino (0.095%, 0.155% y 0.120%, respectivamente) con la especificación (ver anexo N° 13) de Nitrógeno (1.000%-4.000% en base seca) presentada en la Norma Mexicana (NMX: FF-109-SCFI-2008), para humus de lombriz, se observa que los valores de Nitrógeno en el lixiviado son muy bajos. Aunque son productos totalmente diferentes, se puede afirmar que existe una reducción de elementos que se drenan junto al líquido, que da como resultado el lixiviado, comparando con las cantidades (según especificación de Norma Mexicana para humus) que quedan presentes en el vermiabono. Los valores de pH presentados por el lixiviado de estiércol de bovino (9.4, 9.3 y 9.3, respectivamente) no se encuentran dentro de la especificación de pH en la Norma Mexicana (NMX: FF-109-SCFI-2008) para humus de lombriz (5.5-8.5); los tres lixiviados presentan un mayor grado de alcalinidad. Esto probablemente se debe a la presencia de sustancias alcalinas propias del sustrato utilizado en ésta investigación..

Al comparar los resultados de los macroelementos de mayor importancia para el desarrollo de los cultivos (Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio) presentados en el análisis del lixiviado de estiércol de bovino utilizando *Eisenia foetida* en los tres tiempos (semana 1, 5 y 9) con los valores obtenidos en un estudio realizado a un lixiviado de estiércol de bovino utilizando *Eisenia andrei* en tres tiempos (1,2 y 3 meses) en el Departamento de Ciencias Ambientales de la Universidad de Guadalajara (ver anexo N°12) , se observa que los resultados de Nitrógeno para lixiviado producido con *Eisenia foetida* presenta valores mayores en los tres tiempos de análisis (0.095%, 0.155% y 0.120%, respectivamente), sobrepasando hasta con el valor más bajo (0.095%) a los

resultados en los tres tiempos de análisis en el lixiviado producido con ***Eisenia andrei*** (0.040%, 0.030% y 0.040%, respectivamente). En el caso del Fósforo, el lixiviado producido con ***Eisenia andrei***, en los tres tiempos de análisis se reporta que no se detectó presencia de este elemento, mientras el lixiviado producido con ***Eisenia foetida*** lo presenta en cantidades considerables (104.940 ppm, 98.595 ppm y 478.500 ppm, respectivamente). Cabe resaltar que para el análisis de Fósforo por parte de la Universidad de Guadalajara se utilizó otra técnica de análisis (absorción atómica) aún más sensible a la utilizada en esta investigación (espectrofotometría UV-VIS). Existe una gran diferencia en las cantidades de Potasio, presentando los mejores resultados el lixiviado producido con ***Eisenia foetida*** en los tres tiempos de análisis (3,300.000 ppm, 4,500.000 ppm y 4,850.000 ppm, respectivamente), en comparación a los resultados obtenidos en el lixiviado producido con ***Eisenia andrei*** en los tres tiempos de análisis (0.140 ppm, 0.100 ppm y 0.160 ppm). De igual forma, el Calcio, se presenta en mayores cantidades en el lixiviado producido con ***Eisenia foetida*** en los tres tiempos de análisis ( 245.000 ppm, 250.000 ppm y 950.000 ppm, respectivamente), comparado con los valores presentados en el lixiviado producido con ***Eisenia andrei*** en los tres tiempos de análisis (12.070 ppm, 94.060 ppm y 207.820 ppm, respectivamente), observándose que los lixiviados que presentan valores similares en la cantidad de Calcio, son el lixiviado de primera semana de ***Eisenia foetida***, con el lixiviado de tres meses de ***Eisenia andrei***. Los resultados en las cantidades de Magnesio son similares, aunque el lixiviado producido con ***Eisenia foetida*** presenta valores más altos (230.000 ppm, 240.000 ppm y 300.000 ppm, respectivamente), comparados con los resultados del lixiviado producido con ***Eisenia andrei*** (138.120 ppm, 127.460 ppm y 147.660 ppm, respectivamente). En cuanto a los valores de pH, el lixiviado producido con ***Eisenia andrei***, presenta en cada uno de los tiempos de análisis, valores de: 8.5, 8.4 y 8.4, que están dentro de la especificación de pH en la Norma Mexicana para humus (pH: 5.5-8.5), mientras

el lixiviado producido con *Eisenia foetida* presenta valores de pH más altos en cada uno de los tiempos de análisis: 9.4, 9.3 y 9.3, respectivamente; estando fuera de la especificación de pH de la normativa para humus. Las diferencias en las cantidades de elementos presentes en el lixiviado producido con *Eisenia foetida* y el producido con *Eisenia andrei* pueden ser debidas probablemente a diferentes factores, como lo son: la edad y dieta del bovino, porcentajes de elementos presentes en el alimento del animal, la especie de lombriz utilizada, y a posibles variaciones que puedan existir en la técnica de producción de lixiviado.

En el caso de los resultados de los análisis microbiológicos, el lixiviado de estiércol de bovino en los tres tiempos de análisis (como era de esperar por tratarse de utilizar como sustrato estiércol de bovino) presentó una alta cantidad de microorganismos que forman parte de la flora normal del intestino de los bovinos (coliformes totales: >16,000 NMP/100mL, coliformes fecales: >16,000 NMP/100mL, *Escherichia coli*: >16,000 NMP/100mL y *Salmonella spp.*: Ausencia, similitud en los resultados en los tres tiempos). Al comparar los resultados de la investigación con las especificaciones para coliformes totales y *Salmonella spp.* presentadas en la Norma Mexicana (NMX:FF-109-SCFI-2008) para humus de lombriz (ver anexo N°13 ), si se toma que la densidad de los lixiviados de lombriz es aproximadamente de 1.000 g/mL, podemos observar que los resultados presentados por los lixiviados están por debajo a los límites mayores de la especificaciones; por lo que el lixiviado de lombriz cumple con la norma. Debido a su contenido bacteriano, el lixiviado de estiércol de bovino, si se utilizará en fertilización de cultivos de alimentos, no se recomienda su uso en aquellos que se consuman en crudo, debido al alto grado de peligro que este producto representa en la contaminación microbiana en alimentos.

Tabla N°6: Comparación de resultados presentados por lixiviado producido con *Eisenia foetida*, con especificaciones de Norma Mexicana para Humus y resultados estudio realizado en México.

Parámetro	Resultados Semana 1	Resultados Semana 5	Resultados Semana 9	Normativa Mexicana Humus (*)	Estudio México L 1	Estudio México L 2	Estudio México L 3
Nitrógeno	0.095 %	0.155 %	0.120 %	1.000-4.000 % B.S.	0.040 %	0.030 %	0.040%
Fosforo	104.940 ppm	98.595 ppm	478.500 ppm	-	ND	ND	ND
Potasio	3,300.000 ppm	4,500.000 ppm	4,850.000 ppm	-	0.140 ppm	0.100 ppm	0.160 ppm
Calcio	245.000 ppm	250.000 ppm	950.000 ppm	-	12.070 ppm	94.060 ppm	207.820 ppm
Magnesio	230.000 ppm	240.000 ppm	300.000 ppm	-	138.120 ppm	127.460 ppm	147.660 ppm
Densidad	1.0094 g/mL	1.0189 g/mL	1.0031 g/mL	-	-	-	-
pH	9.4	9.3	9.3	5.5-8.5	8.5	8.4	8.4
Coliformes Totales	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL	≤ 1000 NMP/g	N/A	N/A	N/A
Coliformes Fecales	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL	-	N/A	N/A	N/A
<i>E. coli</i>	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL	>16,000 NMP/100mL	-	N/A	N/A	N/A
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	3 NMP/4 g	-	-	-

(\*) Norma Mexicana (NMX-FF-109-SCFI-2008)

N/A: No aplica debido a que se utilizó otra técnica, que fue la de tubos múltiples

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. La normativa mexicana (NMX: FF-109-SCFI-2008) vigente para el humus de lombriz (lombricomposta), presenta especificaciones de grado de calidad, tanto fisicoquímica como microbiológica, para una muestra de humus en base seca, por lo tanto, los datos presentados en esta investigación no son comparables por tratarse de una muestra líquida.
2. El lixiviado que se recolectó a la novena semana fue el que presentó los valores más altos de: Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio; comparado con los lixiviados de la primera y quinta semana, debido al proceso de recirculación del lixiviado, donde los macronutrientes solubles en agua fueron arrastrados por la solución e incrementando la concentración de estos.
3. El lixiviado recolectado en la quinta semana presentó el valor más alto de Nitrógeno, comparado con los valores de la primera y novena semana de producción, debido a que éste es un elemento muy inestable, teniéndose pérdidas por evaporación a medida se tenía mayor tiempo de producción.
4. Los valores presentados en el análisis microbiológico en cuanto a coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* se mantuvieron constantes en la primera, quinta y novena semana con un valor:  $\geq 16,000$  NMP/100 mL, ya que no se realizaron la cantidad de diluciones necesarias para obtener un dato más exacto, para poder decir si la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) lleva o no a cabo una disminución de la carga microbiológica en el lixiviado que drena del lombricompost estiércol del bovino.



5. Las diferencias en las cantidades de elementos presentes en el lixiviado producido con *Eisenia foetida* y el producido con *Eisenia andrei* pueden ser debidas probablemente a diferentes factores, como: la edad y dieta del bovino, los porcentajes de elementos presentes en el alimento del animal, la especie de lombriz utilizada, y a posibles variaciones que puedan existir en la técnica de producción de lixiviado.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

1. Utilizar el lixiviado de nueve semanas que presenta los valores más altos de los macroelementos más importantes para el desarrollo de un cultivo, tales como; Potasio, Fósforo, Calcio y Magnesio. Si se desea utilizar el lixiviado de estiércol de bovino para el cultivo de alimentos, solamente debe usarse para aquellos que no se consuman en forma cruda, debido a la alta carga microbiana que éste presenta.
2. Usar agua potable en la producción de lixiviado, o en caso de no poseer, utilizar agua de otro tipo de fuentes que sean confiables para su uso.
3. Realizar estudios de campo, para evaluar de qué manera actúa el lixiviado de estiércol de bovino en el desarrollo de los cultivos; ya que se le atribuyen otras propiedades, como la regulación fitohormonal, además de fertilizar cultivos.
4. Aplicar este tipo de biotecnologías para disminuir paulatinamente el uso excesivo de fertilizantes de síntesis química, con el objeto de reducir la contaminación del medio ambiente y los altos costos en la producción de alimentos.
5. Realizar un mayor número de diluciones en el análisis microbiológico para obtener un conteo más detallado de las cantidades de microorganismos presentes en el lixiviado de estiércol de bovino, e investigar si los resultados microbiológicos del lixiviado de estiércol de bovino disminuyen realizando análisis a un lixiviado de más de nueve semanas de producción.

6. A las autoridades nacionales competentes, que elaboren una normativa para la regulación de la calidad y uso de este tipo de lixiviado, con el apoyo de diferentes laboratorios agrícolas nacionales, expertos en el análisis de este tipo de productos y universidades.

## BIBLIOGRAFIA

1. A.O.A.C. 2000 "Official Methods of Analysis". Association of Official Analytical Chemists. Inc. Washington. D.C. E.U.A. Capítulo 2, pág. 8,9,10,14,15,21,22,23,24,25,26,28,31. Capítulo 13 pág. 25, 78, 79, 80, 81, 83, 84.
2. APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WPCF (Water Pollution Central Federation). 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. 17 ed, Madrid España. Editorial Días de Santos, S.A. pág. 3-21, 3-322, 3-23, 3-24, 3-25, 4-165, 4-166, 4-167, 4-168, 4-195, 4-196, 4-197, 9-51, 9-52, 9-53, 9-80, 9-81, 9-82, 9-83, 9-84, 9-85, 9-86, 9-87, 9-88, 9-90t, 9-91t.
3. Ferruzzi, C. Manual de Lombricultura. 1982. Lombriz Roja- Las Lombrices Silvestres O Comunes- La Lombriz Domestica Criadero Familiar- Criadero Industrial- Organización- Alimentación Comercialización Ecología. 1 ed. Madrid. Editorial Mundi-Prensa, Catello 37. Pág.13, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 29, 30, 31, 32, 33.
4. Microbiology Manual 12 th Edition Merck. Pág. 272, 304, 305, 313, 357, 358, 403, 404, 406, 407, 434, 435, 436, 466, 467, 471, 472, 512.
5. Shunico Shunico HM. Evaluación de cuatro diferentes sustratos en la producción de vermiabono utilizando *Eisenia foetida* (Lombriz roja californiana). En Cantón Cruz Grande, Izalco, Sonsonate. Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia; 2011

6. W.C. Frazier, D.C. West Hoff. Microbiología de los alimentos. 4ª Edición. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza (España). Traducido del Inglés por D. Manuel Ramos Vorgés. 1993. Pág. 556-562, 570.
7. [http://www.pasolac.org.ni/files/publicacion/1175041790\\_IHCAFE.pdf](http://www.pasolac.org.ni/files/publicacion/1175041790_IHCAFE.pdf)  
(revisado 15-03-12)
8. [http://www.unisarc.edu.co/kickstart/images/Unisarc\\_Documentos/Biblioteca/Libros\\_Digitales/manuallombricultura.pdf](http://www.unisarc.edu.co/kickstart/images/Unisarc_Documentos/Biblioteca/Libros_Digitales/manuallombricultura.pdf) (revisado 13- 02- 12)
9. <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/436/43631105.pdf>
10. [http://faz.ujed.mx/files/Memoria\\_Semana\\_XIX.pdf](http://faz.ujed.mx/files/Memoria_Semana_XIX.pdf) (revisado 17-03-12)
11. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm> (revisado 16-03-12)
12. [http://www.sma.df.gob.mx/sma/download/archivos/secofi\\_nmx\\_aa\\_008l\\_SC FI\\_2000.pdf](http://www.sma.df.gob.mx/sma/download/archivos/secofi_nmx_aa_008l_SC FI_2000.pdf) (revisado 10-04-12)

## GLOSARIO

**Lixiviado:** Los lixiviados pueden definirse como la producción de líquidos percolados, que se deben principalmente al paso del agua a través de los estratos de residuos sólidos que se hallan en plena fase de descomposición arrastrando a su paso componentes disueltos, en suspensión, fijos o volátiles<sup>(3)</sup>.

**Ambiente:** El conjunto de elementos naturales y artificiales o inducidos por el hombre que hacen posible la existencia y desarrollo de los seres humanos y demás organismos vivos que interactúan en un espacio y tiempo determinados <sup>(3)</sup>.

**Biotecnología:** Toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos <sup>(3)</sup>.

**Composteo:** Proceso de descomposición aeróbica que requiere condiciones controladas, particularmente de humedad y aireación, en el cual participan bacterias, hongos y actinomicetes, el cual es posible convertir residuos orgánicos en materia orgánica estable (composta madura), gracias a la acción de diversos microorganismos <sup>(3)</sup>.

**Contaminación:** La presencia en el ambiente de uno o más contaminantes o de cualquier combinación de ellos que cause desequilibrio ecológico <sup>(3)</sup>.

**Estiércol:** Con este término se designa a los desechos en el manejo de la crianza y explotación de animales que puede variar desde un individuo hasta su manejo en gran número en las zonas ganaderas <sup>(3)</sup>.

**Humus:** Producto resultante de la transformación digestiva y metabólica de la materia orgánica, mediante la crianza sistemática de lombrices de tierra, denominada lombricultura, que se utiliza fundamentalmente como mejorador, recuperador o enmienda orgánica de suelos, abono orgánico, inoculante microbiano, enraizador, germinador, sustrato de crecimiento, entre otros usos (NMX-FF-109-SCFI-2008).

**Materia orgánica:** Materiales diversos derivados de organismos vivos que, en calidad de residuos orgánicos, se utilizan para alimentar a las lombrices para producir el humus de lombriz o lombricomposta (NMX-FF-109-SCFI-2008).

**Residuo:** Cualquier material generado en los procesos de extracción, beneficio, transformación, producción, consumo, utilización, control o tratamiento cuya calidad no permita usarlo nuevamente en el proceso que lo generó <sup>(3)</sup>.

**Vermicomposta:** Actividad agraria que consiste en transformar todo tipo de residuos orgánicos por medio de las lombrices de tierra, obteniéndose un fertilizante bioorgánico de alto valor agronómico <sup>(3)</sup>.



## **ANEXOS**

**ANEXO N°1**  
**PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO PARA ANALISIS**  
**MICROBIOLÓGICO**

## **Caldo EC**

### **Composición del medio: (g/L)**

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad (g/L)</b>
Peptona de caseína	20.00 g/L
Lactosa	5.00 g/L
Mezcla de sales biliares	1.50 g/L
Cloruro de Sodio	5.00 g/L
Fosfato di potásico de hidrogeno	4.00 g/L
Fosfato de potasio dihidrogeno	1.50 g/L

### **Preparación del medio**

1. Suspender 37,0 g o 74,0 g en 1,0 litro de agua
2. Llenar los tubos de ensayo DURHAM equipados con medio
3. Colocar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

## **Agar EMB**

### **Composición del medio (g/L)**

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad (g/L)</b>
Peptona	10.00 g/L
Fosfato di potásico de hidrogeno	2.00 g/L
Lactosa	5.00 g/L
Sucrosa	5.00 g/L
Eosina Y amarillenta	0.40 g/L
Azul de metileno	0.07 g/L
Agar-Agar	13.50 g/L

### **Preparación del medio**

1. Suspender 36,0 g en 1,0 litro de agua
2. Colocar en autoclave a 121°C por 15 minutos, y verter en placas.

### **Caldo Lactosado**

#### **Composición del medio (g/L)**

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad (g/L)</b>
Peptona	5.00 g/L
Extracto de carne (res)	3.00 g/L
Lactosa	5.00 g/L

### **Preparación del medio**

1. Suspender 13,0 g en 1,0 litro de agua
2. Llenar los tubos de ensayo DURHAM equipados con medio, colocar en autoclave a 121°C por 15 minutos

### **Medio Rappaport**

#### **Composición del medio (g/L)**

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad (g/L)</b>
Peptona de harina de soja	4.50 g/L
Cloruro de magnesio hexahidratado	28.60 g/L
Cloruro de sodio	7.20 g/L
Fosfato di potásico de hidrogeno	1.26 g/L
Fosfato de potasio dihidrogeno	0.18 g/L
Verde de malaquita	0.036 g/L

### **Preparación del medio**

1. Suspender 48.1 g en 1,0 litro de agua, calentar suavemente si es necesario
2. Colocar en los tubos de ensayo, colocar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

### **Caldo Tetrionato**

#### **Composición del caldo (g/L)**

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad (g/L)</b>
Extracto de carne	0.90 g/L
Peptona de carne	4.50 g/L
Extracto de levadura	1.80 g/L
Cloruro de sodio	2.50 g/L
Carbonato de calcio	25.00 g/L
Tiosulfato de sodio	40.70 g/L
Bilis oc	4.75 g/L
También puede adicionar:	
Yoduro de potasio	5.00 g/L
Yodo	4.00 g/L
Verde brillante	0.01 g/L

#### **Preparación del caldo**

Suspender 82,0 g en 1,0 litro de agua, calentar levemente a ebullición y enfriar rápidamente. Un sedimento de carbonato de calcio en la parte inferior del tubo hace turbio el caldo.

## Agar XLD

### Composición del agar (g/L)

Componentes	Cantidad (g/L)
Extracto de Levadura	3.00 g/L
Cloruro de sodio	5.00 g/L
D (+) xilosa	3.75 g/L
Lactosa	7.50 g/L
L(+)-Lisina	5.00 g/L
Deoxicolato de sodio	1.00 g/L
Tiosulfato de sodio	6.80 g/L
Citrato de amonio ferroso (III)	0.80 g/L
Rojo de fenol	0.08 g/L
Agar-Agar	17.00 g/L

### Preparación del agar

1. Pesar 55,0 g de agar XLD
2. Adicionar 50,0 mL de agua desmineralizada a un matraz
3. Transferir los 55 g de agar XLD al matraz y agitar suavemente
4. Mezclar bien y adicionar los 950,0 mL de agua restantes, hasta que esté completamente suspendida. Verificar si existe grumos y seguir agitando hasta completa disolución.
5. Calentar hasta ebullición hasta completa solubilización
6. Inmediatamente enfríe el medio hasta una temperatura 47-50°C en un baño de agua. Agitar rápidamente para que se enfríe.
7. Verter en placas.
8. Verificar que las placas estén secas y esterilizar antes de usar.

## Agar Rambach

### Composición del agar (g/L)

Componentes	Cantidad (g/L)
Peptona	8.00 g/L
Cloruro de sodio	5.00 g/L
Deoxicolato de sodio	1.00 g/L
Mezcla cromogénica	1.50 g/L
Propilenglicol	10.50 g/L
Agar-agar	15.00 g/L

### Preparación del agar.

1. Adicionar 1 vial de mezcla de líquido a 250, 1000 o 50,000 mL de agua destilada y mezclar por agitación hasta la disolución completa (la cantidad de agua depende del respectivo tamaño de paquete).
2. Adicionar 1 vial de nutriente en polvo y mezclar por agitación hasta que este completamente suspendido.
3. Calentar en un baño de agua a ebullición o en corriente de vapor, mientras agitar cuidadosamente de vez en cuando. El medio está totalmente suspendido, si no hay partículas visuales adheridas a la pared de cristal. El medio no debe ser tratado más térmicamente.

Tiempo estándar para la completa disolución (agitando en secuencias de 5 minutos):

250 mL: 20-25 minutos

1000 mL: 35-40 minutos

Nota: No esterilice en autoclave, no recalentar.

4. Enfríe el medio lo más rápido posible en un baño de agua (40-50°C). Durante éste procedimiento (máximo 30 minutos) agitar suavemente el medio de vez en cuando. Verter en las placas.
5. Con el fin de evitar cualquier precipitado o coagulación de la mezcla cromogénica en las placas, se recomienda colocar la placas petri durante el procedimiento de vertido sobre una superficie fría (máximo 25 °C).
6. La lista de placas son opacas y color rosa. Antes de la inoculación, las placas deben estar secas. pH:  $7.3 \pm 2$  a 25 °C.
7. La vida útil y las condiciones de almacenamiento del preparado fresco en placas son: temperatura del ambiente: 12 horas, en refrigeración (no menor a 6°C) sin sellar. 3 semanas en refrigeración (no menor a 6°C).

### **Agar TSI**

#### **Composición del agar (g/L)**

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad (g/L)</b>
Peptona de caseína	15.000 g/L
Peptona de carne	5.000 g/L
Extracto de carne	3.000 g/L
Extracto de levadura	3.000 g/L
Cloruro de sodio	5.000 g/L
Lactosa	10.000 g/L
Sacarosa	10.000 g/L
D(+) –glucosa	1.000 g/L
Citrato de amonio ferroso	0.500 g/L
Tiosulfato de sodio	0.500 g/L
Rojo de fenol	0.024 g/L
Agar-agar	12.000 g/L



### **Preparación del agar.**

8. Disolver 65 g/L del medio
9. Distribuir en tubos y esterilizar en autoclave por 15min a 120°C
10. Dejar en posición inclinada. pH: 7.4±0.1

### **Caldo VP (Caldo Rojo de metilo según Voges Y Proskauer)**

#### **Composición del caldo (g/L)**

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad (g/L)</b>
Peptona de carne	7.0 g/L
D(+) glucosa	5.0 g/L
Buffer de fosfatos	5.0 g/L

#### **Preparación del caldo**

1. Disolver 17.0 g/L del medio
2. Distribuir en tubos a razón de 5,0 mL
3. Esterilizar en autoclave por 15 minutos a 121°C. pH: 6.9±0.1.

#### **Preparación de la solución indicadora de Rojo de metilo**

1. Disolver 0.04g de Rojo de metilo en 60,0 mL de etanol absoluto
2. Ajustar el pH aproximadamente a 5.0, la solución deberá tener un color anaranjado.

**ANEXO N°2**  
**ESQUEMA DE MANEJO DE LOMBRICULTIVO**

## PLAN DE MANEJO DE LOMBRICULTIVO

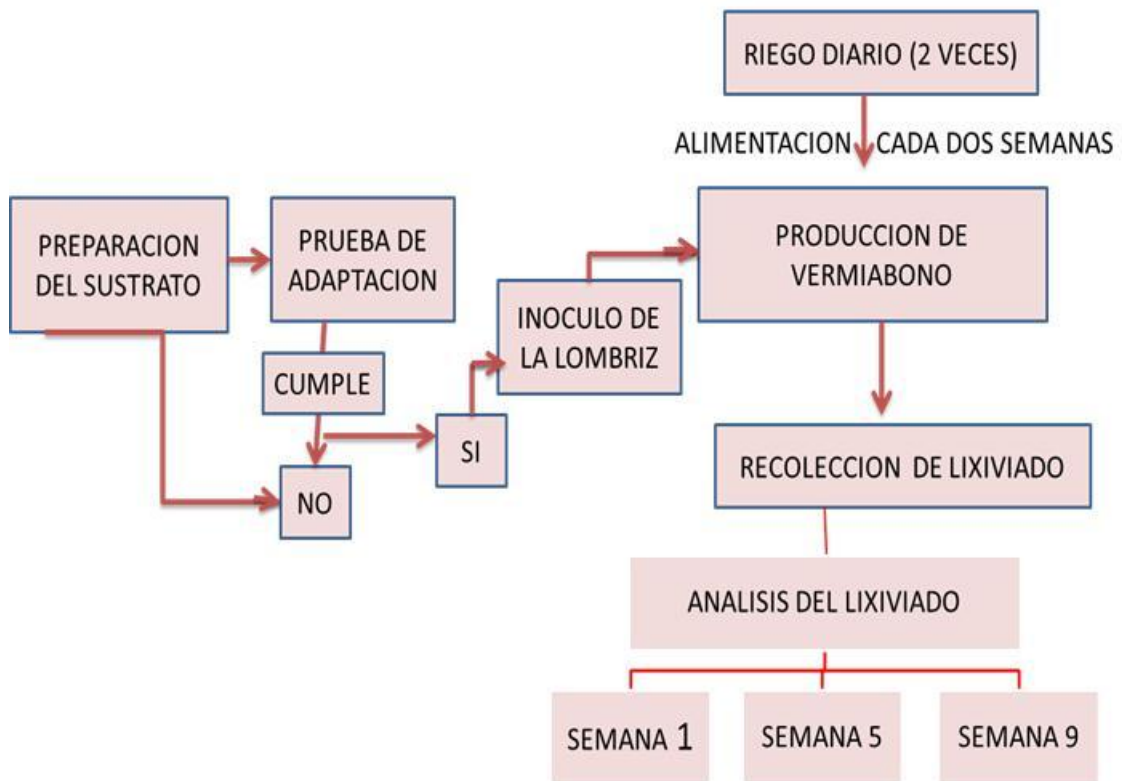


Figura N° 2: Plan de manejo de cultivo.

**ANEXO N°3**

**FOTOGRAFIAS DE RECOLECCION Y TRANSPORTE DE LA LOMBRIZ**



a) Recolección de la lombriz.



b) Selección de la lombriz.



c) Preparación de la lombriz para el transporte.



d) Aplicación de agua para mantener una humedad adecuada

Figura N° 3: Recolección y transporte de la lombriz.

**ANEXO N°4**

**FOTOGRAFIAS DE INSTALACIONES DEL CAMPO EXPERIMENTAL**



a) Exterior del campo experimental.



b) Recibidero del lixiviado obtenido.



c) Interior del campo experimental.

Figura N°4: Instalaciones del campo experimental.

**ANEXO N°5**

**FOTOGRAFIAS INOCULACION DE LOMBRIZ**





a) Pesada de la las lombrices



b) Lombriz antes de inoculación



c) Inoculación de las lombrices en el sustrato

Figura N°5: Inoculación de la lombriz en el sustrato.

**ANEXO N°6**

**FOTOGRAFIAS PRODUCCION Y RECOLECCION DE LIXIVIADO**



a) Producción del lixiviado



b) Recolección del lixiviado



c) Filtrado del lixiviado



d) Lixiviado listo para transporte

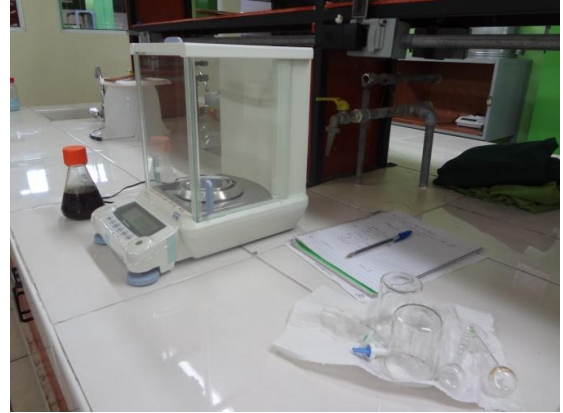
Figura N°6: Producción y recolección de lixiviado.

**ANEXO N°7**

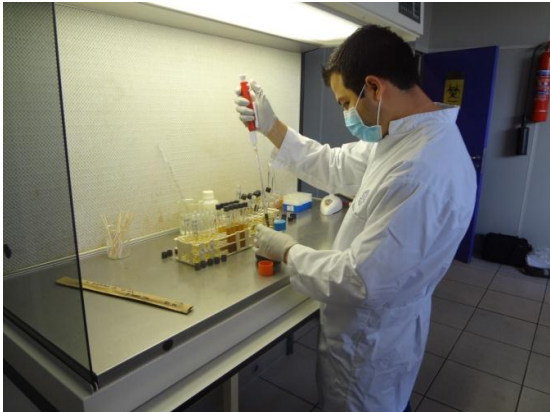
**FOTOGRAFIAS TRANSPORTE Y ANALISIS AL LIXIVIADO**



a) Transporte de lixiviado



b) Muestra lista para análisis fisicoquímico



c) Preparación de la muestra para análisis microbiológico



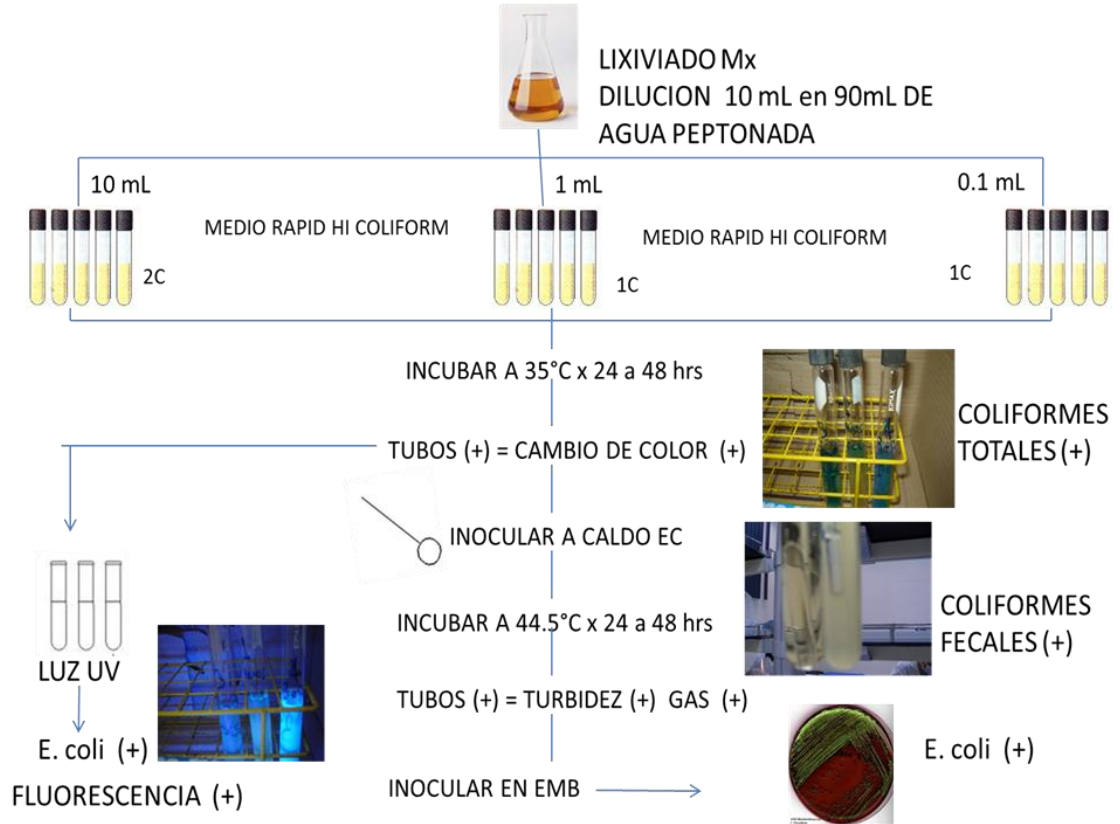
d) Muestra en incubación.

Figura N° 7: Transporte y análisis de lixiviado.

**ANEXO N°8**

**ESQUEMAS DE METODOLOGIAS MICROBIOLÓGICAS.**

## DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES



LUZ UV



E. coli (+)

FLUORESCENCIA (+)

Figura N°8: Diagrama para la determinación de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli*.

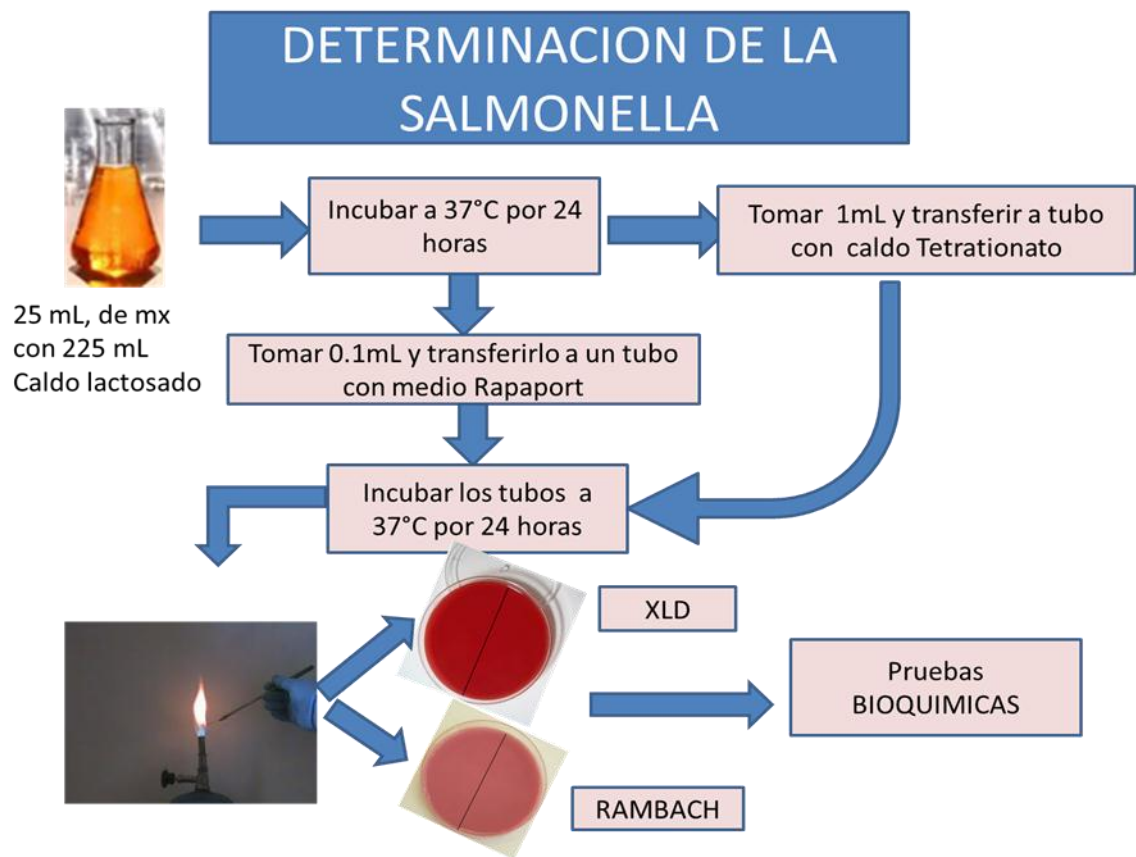


Figura N° 9: Diagrama para la determinación de *Salmonella spp.*



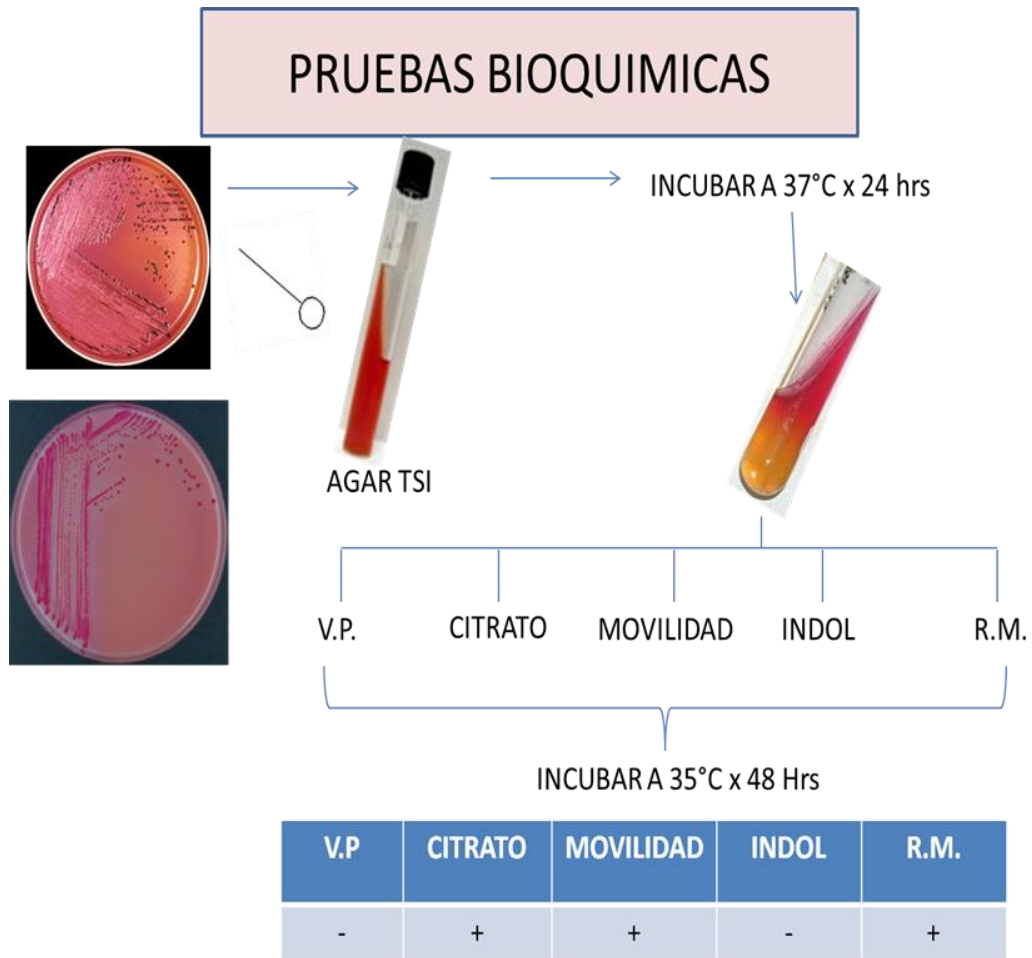


Figura N° 10: Diagrama de las pruebas bioquímicas para la identificación de ***Salmonella spp.***

**ANEXO N°9**

**FUNDAMENTOS DE LAS METODOLOGIAS.**

### **Determinación espectrofotométrica de Fósforo**

**Fundamento:** el Fósforo se determina espectrofotométricamente midiendo la cantidad de luz absorbida por la muestra, cuando un haz de luz (a una longitud de onda de 420 nm) pasa a través de ella. Para ello se necesita que los fosfatos formen un complejo coloreado formado entre el fósforo y un agente acomplejante.

**Fórmula para cálculos:**

$$ppm \text{ (fósforo)} = \frac{ppm \text{ leído en curva}}{\text{factor de dilucion}} \times 100$$

### **Determinación por absorción atómica para Calcio y Magnesio.**

**Fundamento:** La espectroscopia de absorción atómica (EAA), tiene como fundamento la absorción de radiación de una longitud de onda determinada. Esta radiación es absorbida selectivamente por átomos que tengan niveles de energía cuya diferencia en energía corresponda en valor a la energía de los fotones incidentes. La cantidad de fotones absorbidos está determinada por la ley de Beer, que relaciona ésta pérdida de poder radiante, con la concentración de la especie absorbente y con el espesor de la celda o recipiente que contiene los átomos absorbedores.

### **Determinación por absorción atómica (Emisión) para Potasio.**

**Fundamento:** La espectroscopia de emisión en átomos se basa en medir la intensidad de una línea de emisión específica del elemento que se desea determinar. Cuan mayor sea la intensidad de ésta línea mayor es su concentración.

## **Determinación de Nitrógeno por método Kjeldahl.**

**Fundamento:** El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoniaco, el que se destila recibiendo en:  
a) Ácido sulfúrico donde se forma sulfato de amonio y el exceso se valora con hidróxido de sodio en presencia de rojo de metilo, o  
b) Ácido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico.

**Fórmula para cálculos:**

$$\% \text{ de Nitrogeno} = \frac{\text{mL de HCl gastados} \times \text{normalidad de HCl}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

**ANEXO N°10**

**PREPARACION DE REACTIVOS**

## **Preparación de reactivos**

### **Molibdato de Amonio 5%**

Pesar 5 gramos de molibdato de amonio y llevar a volumen en balón volumétrico de 100mL.

### **Vanadato de Amonio 0.25%**

Disolver 0.25 gramos de vanadato de amonio en cerca de 50mL de agua destilada hirviendo. Enfriar y agregar 35mL de ácido nítrico concentrado. Enfriar y llevar a volumen de 100mL en balón volumétrico.

### **Hidróxido de sodio 10N (NaOH 10N)**

Pesar 41g de NaOH y disolver en aprox. 50mL de agua libre de CO<sub>2</sub>, luego llevar a volumen en balón volumétrico de 100mL.

### **Ácido Bórico al 2%**

Pesar 2g de Ácido Bórico y disolver el aprox. 50mL de agua desmineralizada, luego llevar a volumen en balón volumétrico de 100mL.

### **Ácido Clorhídrico 0.05N**

Medir 4.2mL de HCl concentrado y verter en un balón volumétrico de 1000mL que contenga aprox. 200mL de agua desmineralizada por las paredes del balón, luego aforar con agua desmineralizada hasta llevar a volumen.

**ANEXO N°11**

**TABLA DEL NUMERO MAS PROBABLE**





**ANEXO N°12**

**RESULTADOS DE ESTUDIO A UN LIXIVIADO UTILIZANDO *Eisenia andrei* EN EL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AMBIENTALES DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

Tabla N°8: Resultados de estudio de Universidad de Guadalajara

Cuadro 1. Determinaciones como aguas residuales, suelos y aguas a los tres lixiviados					
Determinación	Método	Unidad	Lixiviado 1	Lixiviado 2	Lixiviado 3
Hierro	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	5.74	7.13	12.3
Selenio	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	ND	ND	ND
Fósforo total	AOAC 965.09	mg/L	ND	ND	ND
Calcio	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	12.07	94.06	207.82
Potasio	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	0.14	0.10	0.16
Magnesio	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	138.12	127.46	147.66
Cobre	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	0.25	0.21	0.49
Zinc	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	0.68	0.77	1.01
Plomo	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	ND	ND	ND
Arsénico	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	ND	ND	ND
Sodio	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	495.18	362.76	475.22
Cromo	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	ND	ND	ND
Bario	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	ND	ND	ND
Cadmio	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	ND	ND	ND
Níquel	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	0.5	0.75	0.78
Nitrógeno total	AOAC 954.04	%	0.04	0.03	0.04
Plata	NMX-AA-051-SCFI-2001	mg/L	ND	ND	ND
Ácidos húmicos	STEVENSON 1982	%	0.71	0.50	0.92
Ácidos fúlvicos	STEVENSON 1982	%	0.70	0.65	0.83
Sólidos totales	AOAC 930.36	%	0.78	0.57	0.90
DETERMINACIONES COMO SUELOS					
Materia orgánica	Walkley-Black	%	0.60	0.60	3.85
Carbono orgánico	Calculado	%	0.35	0.35	2.23
pH	Martin 1993		7.70	7.73	8.00
Conductividad eléctrica	Benton 1984	Mili-mhos/cm a 25°C	5.80	4.47	6.46
Capacidad de	Chapman 1965	Meq/10	0.245	0.245	0.312

Tabla N°8: Continuación

Intercambio de Cationes	0 grs				
DETERMINACIONES COMO AGUAS DE USO Y CONSUMO					
pH	NMX-AA-008-SCFI-2001		8.52	8.40	8.38
Alcalinidad total	NMX-AA-36-2001	mg/L(CaCO <sub>3</sub> )	3500	1800	2500
Alcalinidad a Fenolftaleina	NMX-AA-36-2001	mg/L(CaCO <sub>3</sub> )	300	300	300
Color aparente	NMX-AA-045-SCFI-2001	Pt-Co	17100	12800	21200
Conductividad	NMX-AA-093-SCFI-2000	µs/cm	7080	5500	7790
Dureza total	NMX-AA-072-SCFI-2001	mg/L(CaCO <sub>3</sub> )	450	400	500
Dureza de calcio	NMX-AA-072-SCFI-2001	mg/L(CaCO <sub>3</sub> )	250	200	200
Dureza de magnesio	NMX-AA-072-SCFI-2001	mg/L(CaCO <sub>3</sub> )	200	200	300
Cloruros	NMX-AA-073-SCFI-2001	mg/L(Cl <sup>-</sup> )	950	700	1050
Sólidos Disueltos Totales	NMX-AA-034-SCFI-2001	mg/L	3540	2730	3870
Nitrógeno de nitritos	EPA-354.1	mg/L N-NO <sub>2</sub>	0.3	0.4	0.8
Nitrógeno de nitratos	NOM-AA-079-SCFI-2001	mg/L N-NO <sub>3</sub>	60	60	80
Fluoruros	NMX-AA-077-SCFI-2001	mg/L	0	0	12
Turbiedad	NMX-AA-038-SCFI-2001	UTN	3000	2200	3800
Salinidad	2520 Métodos normalizados	%	3.1	2.3	3.5
Mesófilos aerobios	NOM-127-SSA1-1994	UFC/10 0ml	6'600,000, 000	12'400,000, 000	19'400,000, 000
Coliformes totales	NOM-127-SSA1-1994	UFC/10 0ml	100,000	200,000	150,000
Coliformes fecales	NOM-127-SSA1-1994	UFC/10 0ml	563,000	440,000	536,000
<i>Escherichia coli</i>	NOM-127-SSA1-1994	UFC/10 0ml	1,000	600	300

**ANEXO N°13**

**ESPECIFICACIONES FISICOQUIMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE  
NORMA MEXICANA PARA HUMUS (NMX: FF-109-SFCI-2008)**

Figura N° 11: Especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas de Norma Mexicana para Humus (NMX: FF-109-SCFI-2008).

NMX-FF-109-SCFI-2008  
9/24

**TABLA 2.- Especificaciones Fisicoquímicas del Humus de Lombriz (Lombricomposta)**

Característica	Valor
Nitrógeno total	De 1 a 4% (base seca)
Materia orgánica	De 20% a 50%(base seca)
Relación C/N	≤20
Humedad	De 20 a 40% (sobre materia húmeda) <sup>2</sup>
pH	de 5,5 a 8,5 <sup>3</sup>
Conductividad eléctrica <sup>4</sup>	≤ 4 dS m <sup>-1</sup>
Capacidad de intercambio catiónico	> 40 cmol kg <sup>-1</sup>
Densidad aparente sobre materia seca (peso volumétrico)	0,40 a 0,90 g mL <sup>-1</sup>
Materiales adicionados	Ausente

#### 6.4 Especificaciones microbiológicas

En todos los grados de calidad, el producto debe cumplir con las especificaciones microbiológicas establecidas en las correspondientes Normas Oficiales Mexicanas emanadas de la Secretaría de Salud vigentes para *Salmonella* y *Escherichia coli*.

**TABLA 3.- Límites máximos permisibles para Especificaciones Microbiológicas**

Microorganismo	Tolerancia
<i>Escherichia coli</i>	≤ 1000 NMP por g en base seca
<i>Salmonella spp</i>	3 NMP en 4 g, en base seca
Huevos de helmintos viables **	1 en 4 g, en base seca
Hongos Fitopatógenos **	Ausente

En donde: NMP = Número más probable

\*\* Sólo será exigible a solicitud expresa de la autoridad competente

<sup>2</sup> Algunos materiales de origen vegetal, como la pulpa de café, tienen una capacidad higroscópica mayor a los equivalentes producidos con residuos de origen animal, por lo que para este caso se acepta una humedad hasta de 60%.

<sup>3</sup> Se prefiere material con un pH de 7. El material procedente de zonas tropicales puede tener pH menor a 7 y los materiales provenientes de zonas áridas pueden tener pH mayor a 7.

<sup>4</sup> dS m<sup>-1</sup> = decisiemens X metro

**ANEXO N°14**

**METODOLOGIA PARA LA DETERMINACION DE HUMEDAD POR  
MEDIO DEL METODO DEL PUÑO**

## **Técnica para la determinación de humedad del sustrato por medio del método empírico – Método del puño**

1. Después o antes de realizar el riego, tomar con la mano una cantidad de sustrato.
2. Exprimir el sustrato con la palma de la mano (ver Figura N° 12)
3. Si se produce un goteo constante el sustrato se encuentra con la humedad ideal para el desarrollo de la lombriz (80-85%).
4. Si en el sustrato no se produce goteo (no se libera nada de líquido), existe la necesidad de realizar riego.
5. Si el sustrato produce un chorro de líquido, la humedad se encuentra por encima de lo normal. No realice riego.



Figura N° 12: Método del puño para medir humedad en sustrato