

Universidad Nacional Autónoma de México
FACULTAD DE QUIMICA

LA INFLUENCIA DE MICRO Y MACRO NUTRIENTES
EN LOS NIVELES DE POBLACION DE MICROORGA-
NISMOS CELULOLITICOS Y ACTINOMICETOS EN LA
DEGRADACION DE DESECHOS SOLIDOS ORGANICOS



DEPTO. DE PASANTES Y
EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

T E S I S

Que para obtener el título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a n

LUCRECIA FELICITAS JACOBA DURAN BADILLO

MARIA DE LA LUZ RODRIGUEZ SINECIO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado originalmente
según el tema.

Presidente	LILIA VIERNA GARCIA
Vocal	ALFREDO ECHEGARAY ALEMANN
Secretario	JORGE SOTO SORIA
1er. Suplente	RCSA MARIA RAMIREZ GAMA
2º. Suplente	BEATRIZ LUNA MILLAN

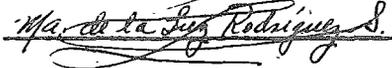
Sitio donde se desarrolló el tema: DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
EXPERIMENTAL FACULTAD DE QUIMICA.

Nombre completo y firma del sustentante:

DURAN BADILLO LUCRECIA FELICITAS JACCSA



RODRIGUEZ SINECIC MARIA DE LA LUZ



Nombre completo y firma del asesor del tema:

JORGE SOTO SORIA



GRACIAS AL CREADOR OMNIPOTENTE QUE GUIA NUESTROS PASOS

A MI MADRE POR SU AMOR, APOYO
Y COMPRENSION QUE ME HA BRIN-
DADO EN EL TRANSCURSO DE MI -
VIDA.

A MI PADRE POR SUS CONSEJOS
Y APOYO.

A MI HERMANO BETITO POR SU
ESTIMULO Y CARINO.

MARY.

A MIS PADRES ANTONIA Y MACARIO
CON PROFUNDO CARIÑO Y SINCERO
AGRACEDIMIENTO, CORRESPONDIENDO
A SU SACRIFICIO, AMOR Y EJEMPLO
DE SUPERACION CONSTANTES

A MIS HERMANOS

EUSTAQUIO JAVIER

VICTORINO GASTON

HABACUC.

LUCRECIA

A LA MEMORIA DE ABUELOS
DIONISIO Y EUSEBIA

A MIS TIOS Y PRIMOS

LUCRECIA

A NUESTROS AMIGOS, PROFESORES
COMPAÑEROS Y TODAS AQUELLAS -
PERSONAS QUE DE UNA U OTRA --
FORMA HICIERON POSIBLE LA REA
LIZACION DE ESTE TRABAJO.

INDICE

CAPITULO		PAGINAS
1	Introducción	1
2	Generalidades	4
3	Material y Métodos	46
4	Resultados	70
5	Discusión de Resultados	87
6	Conclusiones	86
7	Bibliografía	99

I INTRODUCCION

I INTRODUCCION

Es conocido el hecho de que con el uso continuo -- del suelo para la producción de alimentos, la fertilidad va disminuyendo paulatinamente, siendo una de las causas la pér dida de la materia orgánica o humus.

Una de las formas de ayudar a mantener o regenerar la fertilidad, consiste en la aplicación de materia orgánica transformada o descompuesta previamente en lo que se cono ce como abonos orgánicos o compostas, los cuales para que -- sean de utilidad; deben tener características físicas y químicas semejantes a la materia orgánica del suelo y contener una microflora y microfauna análoga a la de este material.

Los abonos artificiales o compostas se preparan -- mediante la transformación de los residuos vegetales, por -- ciertos procesos fermentativos iguales a los producidos en -- los abonos naturales, realizados por una microflora específi ca sea espontánea o incorporada artificialmente; esta microflora específica está compuesta en una gran parte de bacte--- rias celulolíticas termófilas; y los elementos minerales a -- agregar son el fósforo, potasio, calcio, además de nitrógeno

que se incorpora en forma de urea, sales amoniacales o nitratos.

El presente trabajo consistió en el estudio de dos muestras de desperdicios de origen doméstico; recolectados al azar, mezclados y separados por bipartición en partes iguales. Una parte se dejó seguir el curso normal de la descomposición de la materia orgánica y la otra parte fué adicionada con micro y macro nutrimentos; algunos micronutrimentos son sustancias minerales, unas de ellas conocidas como catalizadores, Hierro, Cobre, Zinc, Manganeso, Cobalto, Boro, Molibdeno y entre los macronutrimentos como Potasio, Fósforo, Calcio, Magnesio, sales de amonio y nitratos como fuente de nitrógeno, almidón y sacrosa como fuente de Carbono. Periódicamente se realizaron muestreos en ambos sistemas para hacer una cuantificación de las poblaciones microbianas de Celulolíticos y Actinomicetos que intervinieron en la degradación.

Se determinaron algunas propiedades físicas y químicas para tener la calidad de una y otra composta.

El objetivo principal de agregar ciertos nutrimentos a los desperdicios de origen doméstico es comprobar si se acelera el proceso de la descomposición de la materia orgánica y con esto acortar el tiempo de fermentación en la-

preparación de una composta a nivel industrial. Este tipo-
de composta se utilizaría para fertilizar, mejorar y conser-
var la vida de los suelos agrícolas a la vez que resolvería
el problema de la eliminación de los desperdicio, que se --
presenta en zonas rurales y en las grandes ciudades.

2 GENERALIDADES

2 GENERALIDADES

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE LA DEGRADACION DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS (1) (21)

2.1. DESCOMPOSICION DE LA MATERIA ORGANICA

Cuando los residuos vegetales y animales caen al -- suelo o colocados en montones inmediatamente son atacados -- por organismos, tales como bacterias, hongos, actinomicetos, protozoarios y gusanos; como resultado de su descomposición, algunos de sus componentes se volatilizan otros son emplea-- dos por los microorganismos para formar materia celular mi-- crobiana y aún otros son transformados en humus.

La rapidez de la descomposición depende de la natu-- raleza química de los residuos y de las condiciones de la -- descomposición.]

En el proceso de formación de humus, proveniente de residuos de plantas se pueden reconocer tres distintas fa--- ses, debidas a la actividad de los organismos que metaboli-- zan esos materiales:

- Descomposición de parte de los constituyentes quí

nicos.

- Síntesis de nuevas sustancias por esos organismos
- Formación de compuestos resistentes a la degradación por procesos de condensación y polimerización.

De esos organismos, los microorganismos juegan un papel importante en las transformaciones de los desperdicios orgánicos y los podemos dividir en dos grandes grupos:

a) La microflora zimógena que comprende a todos los microorganismos saprofiticos y parásitos, cuyo número en calidad y cantidad de especies fluctúa enormemente cuando las condiciones del medio son favorables y cuyo papel principal es la descomposición de la materia orgánica.

b) La microflora autóctona cuyo papel principal es mantener el balance de los dos grandes ciclos biológicos; el del carbono y el del nitrógeno, y de otros factores que contribuyen a mantener la fertilidad de los suelos.

Las bacterias heterotróficas que utilizan el nitrógeno combinado, se conocen imperfectamente, pueden sin embargo dividirse en bacterias aerobias esporuladas o no esporuladas y en bacterias anaerobias.

Entre las bacterias aerobias esporuladas estan:

Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus, B. mycoides, etc.

En las bacterias aerobias no esporuladas tenemos entre ---
otras a:

Pseudomonas fluorescens, Proteus vulgaris, Escherichia coli,
Aerobacter aerogenes, Gaffkya tetragena, especies de Sarcina,
Mycobacterium y Diplococcus.

Entre las bacterias anaerobias están especies del género ---
Clostridium como:

C. pasteurianum y C. butyricum.

Todos estos microorganismos realizan el ataque a --
las sustancias orgánicas disponibles, hasta convertirlas en
una masa de color café oscuro a negro, que tiene ciertas ca-
racterísticas físicas, químicas y microbiológicas, denomina-
da humus. ↓

2.2 MICROORGANISMOS DEL CICLO DEL CARBONO

Podemos distinguir los siguientes grupos:

2.2.1 Bacterias autótrofas (fotótrofos y quimiótrofos); ca-
paces de utilizar el carbono del CO₂ y el de los carbonatos.

2.2.2 Bacterias heterótrofas celulolíticas que degradan la celulosa; la cual es la sustancia más abundante del tejido vegetal. Dentro de este grupo existen dos subgrupos:

a) Microorganismos aerobios. Aquí existe un numeroso grupo de bacterias (correspondientes a los géneros *Cytophaga* y *Cellvibrio*) los cuales realizan la degradación de la celulosa. Además hay hongos que hidrolizan la celulosa hasta llegar a cadenas más cortas como la celobiosa y la glucosa.

b) Microorganismos anaerobios. Aquí predominan las bacterias esporuladas que producen como resultado de su metabolismo la formación de ácidos orgánicos, aminas y gases. -- Los factores que regulan la actividad de este grupo son la humedad, la temperatura y la poca aireación.

2.2.3 Degradación de hemicelulosas, almidones y pectinas.

Las bacterias zimógenas heterotróficas metabolizan estas sustancias con formación de otras sustancias más simples: dextrina, ácidos orgánicos, gas, etc.

2.2.4 Degradación de lignina.

La lignina es una sustancia abundante y bastante --

más resistente que las hemicelulosas, almidones y pectinas, a los ataques microbianos por lo que su descomposición es -- lenta.

2.2.5 Descomposición de tejidos vegetales.

Los vegetales forman sus tejidos metabolizando el agua, el CO_2 y las sales minerales; cuando estos vegetales mueren, los organismos del suelo (bacterias, actinomicetos, hongos, etc.) mineralizan nuevamente este carbono orgánico formado por las plantas, haciendolo asimilable para los vegetales.

2.3 HUMUS (11)

2.3.1. Definición de humus.

Podemos definir al humus como un complejo amorfo, coloidal, producto de la descomposición de la materia orgánica; considerado por Taher y Waksman como la reserva y estabilizador de la vida orgánica en la tierra y por Geltzer como la fracción coloidal capaz de formar compuestos orgánico-minerales en el suelo propiamente dicho siendo la clave de la fertilidad y productividad del mismo.

2.3.2 Formación del humus.

Su formación, considerada en un principio como una consecuencia de reacciones químicas, es actualmente considerada como un fenómeno de orden bioquímico, interviniendo por lo tanto en su formación entre otros organismos la flora microbiana del suelo, esta transformación se efectúa en etapas sucesivas. El medio ambiente (temperatura, pH, humedad, -- etc.) tiene una gran influencia en este proceso de degradación.

Desde el punto de vista químico el "humus" puede -- considerarse como un complejo de ácidos húmicos, los cuales presentan ciertas características físico-químicas que lo individualizan. Estos complejos son de color castaño negro, - insolubles en agua y solubles en bases diluidas; precipitables por ácido sulfúrico. Su estado coloidal y su carácter electronegativo y acidófilo favorecen el intercambio de cationes en el suelo. Su relación C/N representa la fórmula - equilibrada y favorable de 10/1, esto es 55 a 70% de carbono y 4 y 7% de nitrógeno.

Este complejo de ácidos húmicos ha sido ordenado se gún la clasificación alemana en la forma siguiente (W. Laas-tsch 1948).

A. Fracción soluble: formada por dos complejos húmicos, ambos

solubles en hidróxido de sodio diluido;

a) Complejos prehúmicos, no precipitables por el -- ácido sulfúrico, correspondientes a los ácidos fúlvicos.

b) Complejos de humoligninas, precipitables por el ácido sulfúrico pero solubles en bromuro de acetilo.

c) Acidos húmicos, insolubles en bromuro de acetilo dando dos tipos de ácidos húmicos; el uno rico en nitrógeno de color gris y el otro pobre en este elemento (de color cas taño).

B. Fracción insoluble; compuesto húmicos insolubles en los disolventes corrientes. En realidad, este complejo - no podría ser utilizado por las plantas sin la intervención de la microflora y microfauna del suelo, acción que da por - metabolismo productos nitrogenados como el amoníaco, los ni- tritos y nitratos, siendo el primero la única forma en que - las plantas incorporan el nitrógeno para la formación de -- aminoácidos y proteínas.

2.3.3 Función del humus

Interviene por un lado en el equilibrio físico, quí- mico y biológico del suelo y es un mejorador de su estructu-

ra, y por otro lado es un regulador de la temperatura y de la capacidad de retención del agua en el suelo.

Desde el punto de vista químico es un complejo que controla el equilibrio entre los iones absorbidos y disueltos, aumentando por otro lado el poder amortiguador, la capacidad total de cambio y las reservas nutritivas del suelo.

Desde el punto de vista biológico, el humus gracias a los microorganismos existentes en el suelo se mantiene en constante transformación y es utilizado por los microorganismos como una fuente de energía.

Se puede decir, finalmente, que el humus ayuda en la solubilización de los minerales y es estimulante en la nutrición de los vegetales superiores, debido a la formación de vías y factores de crecimiento resultante del metabolismo microbiano.

2.3.4 Tipos de humus.

Se entiende por humificación la formación del humus a partir de materia orgánica vegetal, muerta, en el suelo y su mineralización. Su evolución es un proceso cíclico, que comprende fases de formación y de descomposición (mineralización del complejo húmico).

La génesis del humus en el suelo es una consecuencia, por lo tanto, de la actividad microbiana, actividad que está supeditada a factores de índole interna y externa; los factores internos se refieren a la composición y origen de los residuos o constituyentes vegetales y a la acción de los microbios sobre ellos; y los externos corresponden a factores climáticos, de cultivo, de pH, de aireación del suelo, etc.

El humus por su origen puede clasificarse en dos grupos generales: humus formados en medios especialmente aerobios y humus formados en medios de anaerobiosis dominante. De acuerdo a estas características Müller, clasifica al humus en los tipos siguientes:

A. Humus formado en medio especialmente aerobio.

a) Humus Mull; caracterizado por ser ácido y de rápida mineralización. Su relación C/N es alrededor de 10 a 15 y su pH entre 5.0 a 6.5 dominando los ácidos marrones. Interviene en su génesis una microflora variable. Este tipo de humus, comprende a su vez varios subtipos.

b) Humus Mor; se forma en suelos pobres o desprovistos de bases y la característica fundamental es que son netamente ácidos y de muy lenta mineralización. Su pH es entre-

3.5 a 4.5, según su composición y origen existen varios subtipos de Humus Mor. La flora microbiana que interviene en el proceso de mineralización es netamente acidófila.

c) Humus cálcico; son humus ligeramente alcalinos o neutros, formados sobre la roca madre, mineralizando con rapidez. Caracterizan a los suelos carbonatados pues su pH es entre 7 y 8, predominando los ácidos húmicos grises ricos en aminas.

B. Humus formado en medio anaerobio

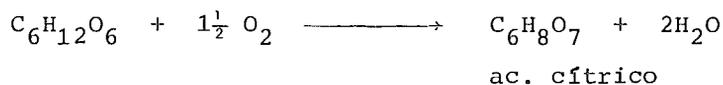
El humus así formado genera los suelos de turba, -- los cuales se forman en medios saturados de agua, pudiendo ser de reacción ácida, neutra o básica y los suelos Mor turbosos, que pueden o no ser ácidos y se forma en medios semi-saturados de agua o de saturación temporal.

2.4 DESCOMPOSICION DE CARBOHIDRATOS (10) (21)

El mecanismo de descomposición de carbohidratos por microorganismos depende de la naturaleza del carbohidrato, la naturaleza del organismo y las condiciones de descomposición especialmente el suministro de oxígeno.

Si la glucosa es atacada por hongos las reacciones-

involucradas son las siguientes:



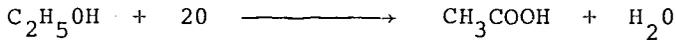
Si la glucosa es descompuesta por bacterias anaerobias y por levaduras las reacciones involucradas son las siguientes:



Si la glucosa es descompuesta por hongos que crecen en anaerobiosis se produce:



En condiciones aeróbicas el alcohol es fuertemente oxidado a ácido acético hasta ácido fumárico:

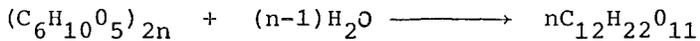


ác. acético



ác. fumárico

Los almidones son primero hidrolizados por enzimas-diastasicas paradar dextrinas y finalmente maltosa y glucosa.



almidón

maltosa



maltosa

glucosa

El almidón es descompuesto por gran número de microorganismos entre los hongos ciertas especies de Aspergillus y entre las bacterias el Bacillus amylovorus, B. mesentericus y B. macerans son las más conocidas.)

2.4.1 Descomposición de la celulosa

La celulosa es un polímero de la glucosa; su descomposición presenta distintos problemas en suelos y compostas.)

La formación de enzimas celulolíticas puede ser demostrada con dificultad. La celulosa de diferentes orígenes puede mostrar diferentes propiedades físicas. Predomina en fibras y materiales de madera, es resistente a varios agentes oxidantes e hidrolizada por ácidos concentrados; también es resistente al ataque de la mayoría de microorganismos que son habitantes del suelo. Puede ser descompuesta por ciertos microorganismos específicos contándose entre ellos las bacterias, los hongos, los actinomicetos y los animales inferiores. Estos organismos pueden dividirse en distintos grupos en base a su morfología y diferencias fisiológicas:

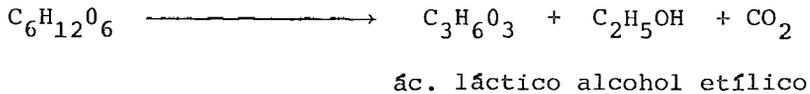
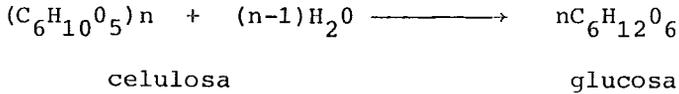
a) bacterias aeróbicas; b) myxobacterias; c) bacterias anaeróbicas incluyendo formas termofílicas; d) actinomicetos; e) hongos filamentosos; f) hongos "zetas"; g) protozoarios; h) insectos y otros animales.

El mecanismo de la ruptura de la celulosa por los microorganismos depende de la naturaleza del organismo y de las condiciones de la descomposición.

Las bacterias aeróbicas y hongos "zetas" utilizan completamente la celulosa produciéndose sólo CO_2 .

Las bacterias anaeróbicas descomponen la celulosa con la formación de varios ácidos orgánicos y alcoholes con-

las siguientes reacciones:



2.4.2 Condiciones reguladoras de la función celulolítica - (11)

La descomposición de la celulosa esta influenciada por una cantidad de factores, entre los cuales se encuentran como más importantes los siguientes:

- Humedad. El exceso de humedad (80%) favorece el ataque del grupo anaerobio y no permite el desarrollo ni de las bacterias aerobias ni de los hongos y actinomicetos; en cambio, con una humedad de 50 - 70% predominan las formas aerobias. Una humedad debajo del 10% paraliza esta actividad microbiana, pero muchos insectos y gusanos aún pueden actuar en estas condiciones.

- Temperatura. La óptima para el grupo aerobio se encuentra entre 20 - 25 °C y la del grupo anaerobio alrededor de 37 °C. Las bacterias termófilas desarrollan a 45 - 55 °C y los actinomicetos entre 50 - 65 °C.)

+ Reacción. Entre pH 6.0 a 9.0 es reacción favorable para las bacterias aerobias, a pesar de que la reacción ligeramente alcalina es más favorable; los actinomicetos progresan a pH más bajos, entre 5.5 - 9.5 y hay especies que -- aún debajo de esta reacción pueden prosperar; los hongos desarrollan en medios más ácidos y hasta pH 2.0. La incorporación al suelo de abonos ácidos bajara el pH y la descomposición de la celulosa será realizada por los hongos. Si adicionamos fertilizantes alcalinos se reduce considerablemente la población de hongos y aumentan las bacterias que descomponen la celulosa.)

Según Jensen, cuando un suelo ligeramente ácido se abona, desarrollan las especies del género Vibrio, pero cuando la reacción es ácida (pH 5.7 - 6.2) progresa Spirochaeta-cytophaga, con acidez más baja desarrollan especialmente hongos (Trichoderma y Penicillium). Así, la incorporación al suelo de abonos ácidos o alcalinos tiene mucha importancia - como reguladores de la flora celulolítica.

2.5 FACTORES QUE LIMITAN LA ACTIVIDAD DE LOS MICROORGANISMOS (3)

Las limitaciones de la actividad microbiana están impuestas por la disponibilidad de alimento y por ciertos factores físicos y biológicos del ambiente.

Los factores físicos que requieren atención son: - la humedad, la aireación, el pH y la temperatura.

El factor principal que limita el crecimiento microbiano en la composta es la escasez de alimento o carencia de una fuente de energía apropiada. Por consiguiente, cualquier adición de material energético a la composta provocará, casi invariabilmente, un incremento en la actividad microbiana. La mayoría de los microorganismos son heterótrofos.)

2.5.1 La humedad

La degradación de residuos orgánicos puede producirse con contenidos de humedad por debajo de 10%. Bartholomew y Norman (1947) observaron que el umbral de humedad para la descomposición de muchos residuos vegetales es aproximadamente el 80% de humedad relativa.

2.5.2 La aireación.

El factor restrictivo es la carencia de oxígeno. - El oxígeno es necesario para la nitrificación, entre otros - procesos.) Una aireación insuficiente o mal distribuída origina condiciones anaeróbicas con una consecuente baja en el - grado de la descomposición y un aumento en cuanto a olores - putrefactos.

2.5.3 El pH y la temperatura.

La escala de pH que corrientemente toleran las bacterias del suelo se encuentra entre un pH 4 a 10. El óptimo dentro de estos márgenes se encuentran muy cercanos al punto neutro hacia el lado alcalino. Algunas bacterias se inhiben fácilmente por la acidez o alcalinidad mientras que otras -- presentan gran tolerancia a puntos extremos de pH.

La escala de temperaturas óptimas para las bacte---rias del suelo se encuentra entre 25 y 35°C, aunque gran mayoría crece muy bien entre los 10 y 40°C.

2.6 CARACTERISTICAS DE LA MICROFLORA CELULOLITICA (2) (11)

2.6.1. Reseña histórica.

Van Iterson Jr., 1903, al trabajar sobre la descom-

posición de la celulosa, observó que el papel filtro inoculado con suelo, se cubría después de varios días, de manchas de color amarillas y marrón y además sufría la desintegración de sus fibras. De este material aisló una bacteria alargada que le dió el nombre de Bacillus ferrugineus, la que en contraba siempre asociada a una forma cocoidea considerándola solamente como una especie que favorecía, en una forma no especificada el proceso de desintegración celulósica. A pesar de esto, nunca pudo obtener buenos resultados en la descomposición de la celulosa, cuando trabajaba con estos cultivos al estado puro.

En 1912 Kellerman en Norteamérica, lo mismo que Beth Seales y Smith, inician el estudio de este grupo bacteriano y aislan alrededor de treinta nuevas especies de bacterias, utilizando numerosos medios de cultivo, entre los cuales el más importante es el de la gelosa celulosada que es un medio compuesto por una suspensión de un precipitado celulósico agregada de sales minerales, sulfato de amonio y agar.

Se puede decir que el aporte de mayor importancia al esclarecimiento de este problema fue el trabajo realizado en la estación experimental de Rothamsted en 1919 por, H. B. Hutchinson e I. Clayton, con el aislamiento de una bacteria aerobia, con actividad específica y enérgica de atacar celulosa, denominándola Spirochaeta cytophaga. Los trabajos pos

teriores realizados por Groenewege (1920), Sack (1924), Gray y Chalmer (1924), no aportaron nada nuevo al conocimiento de la misma, únicamente el aislamiento por estos dos últimos autores, de una bacteria capaz de licuar el agar a la cual denominaron Microspira agar liquefaciens.

En 1925 Winogradsky, en su primera memoria, sugiere que es posible aislar la bacteria de Hutchinson y Clayton -- sembrando granitos de tierra en medio con sílice gelatinosa-impregnada de sales minerales y que da muy buenos resultados cuando se le agrega celulosa. Bojanovsky en 1925 y Waksman en 1926 emplean un medio de silica gel preparada en forma un poco distinta a la recomendada por Winogradsky para aislar - estas bacterias, cubriendo el medio con un disco de papel de filtro agregándole luego granitos de tierra en la superficie del mismo. Este último autor distingue dos grupos de bacterias aerobias, según la función que desempeñan en la degradación de la celulosa: grupo Cytophaga y grupo Vibriones.

Los trabajos de Waksman y colaboradores han permitido conocer tres clases de microorganismos que habitan en el suelo y que tienen capacidad de atacar la celulosa, representados entre los hongos, bacterias y actinomicetos. En 1928- Dubos aisla cinco nuevas especies de diferentes suelos y -- Winogradsky en su tercera memoria del año 1929 agrupa estas bacterias aerobias en los géneros siguientes:

1. Cytophaga, con cuatro representantes, entre los cuales incluye la especie Spirochaeta cytophaga de Hutchinson y Clayton, la que denomina Cytophaga hutchinsonii. Estas son; Cytophaga hutchinsonii, C. aurantiaca, C. rubra y C. tenuisima. Estas especies según dicho autor, transforman la celulosa en un coloide rico en nitrógeno orgánico y de reacción ácida.

2. Cellvibrio, con dos especies; C. ochracea y C. flavescens.

3. Cellfalcicula, con tres especies; C. viridis, C. mucosa y C. fusca.

Según Krzemieniewska, C. hutchinsonii es distinta a Spirochaeta de Hutchinson y Clayton porque la primera forma microquistes y la otra no; además esta última especie parece ser distinta a las demás en su ciclo de vida ya que es muy parecida a Myxococcus, correspondiente a Myxobacteriales, por lo que se ha sugerido el nombre de Cytophaga myxococoides para esta bacteria. Rippel sostiene también que la bacteria de Van Iterson, Bacterium ferrugineus, tiene mucha semejanza con las mixobacterias, clasificandola con el nombre Itersonia ferruginea.

Omeliansky describió dos bacterias anaerobias de la celulosa a pesar de que no las pudo aislar en cultivo puro.

Estas bacterias producen por la fermentación de la celulosa gas metano e hidrógeno.

En 1930 Clause aisla en Alemania las bacterias de Omeliansky, a las cuales denomina Bacillus omelianskii, en cultivo puro, esta bacteria produce solamente hidrógeno; el metano encontrado por Omeliansky era producido según Clausen, por otras formas de infección, pues aquel autor nunca trabajó con cultivos puros. Poco después aisla dos nuevas especies que las denomina especie I y II de la celulosa.

Khouvine, en 1923, estudia una bacteria anaerobia, aislada del intestino del hombre y de los animales denominando B. cellulosa disolvens, la cual es capaz de descomponer la celulosa. También Clausen pudo aislar del intestino del hombre una especie muy parecida a B. amilobacter, capaz de atacar la celulosa denominándola Amilobacter navicula.

Werner aisla del intestino de larvas de Protosea cuprea, un anaerobio que destruye celulosa y la denomina B. cellulosa fermentans.

Los trabajos de Rubentschik (1930), con suelos de Rusia y los de Warren y Walker (1938), demostraron que la celulosa bacteriana daba como producto metabólico, una sustancia con las características de un coloide. Posteriormente

Russel (1938) y Mc Calla (1942) cimentaron la idea de la for-
mación de coloides en el suelo por el fenómeno de la celulo--
sis.

Sin duda este fenómeno es uno de los más importan--
tes desde el punto de vista agronómico y geológico. Siendo
la celulosa, por otro lado el origen de las turbas, ligni---
tas, hullas. Es una de las sustancias principales en la for-
mación del suelo y del humus.

2.6.2 Factores que limitan la actividad celulolítica

La flora microbiana celulolítica o sus enzimas se -
comportan en forma distinta, según la naturaleza de la fibra
de celulosa, dependiendo de ciertos factores fundamentales,-
entre los cuales podemos mencionar:

1. Grado de cristalización: Mientras más cristaliza
da se encuentra la fibra, más resistente es al ataque micro-
biano; en cambio cuanto más amorfa se encuentra, es más fá--
cilmente destruida.

2. Grado de orientación. Es el ángulo que forman -
las fibrillas con el eje de la fibra. Según Heyes y Holden,
entre más elevado es este grado, más resistente es la fibra;
debido a esto la fibra de ramio es más resistente que la fi-

bra de algodón. Cuando más ricas son las fibras en materia fermentescible (pectina), más fácilmente son atacadas. Es por esto que la celulosa purificada (papel de filtro, tejidos, etc.) son más resistentes que las celulosas naturales - debido a que en la purificación se eliminan gran cantidad de sustancias que ayudan a la descomposición. Por el contrario, cuanto más rica es la celulosa en materia difícilmente fermentescibles (lignina aceites, etc.) la fibra es tanto más resistente al ataque microbiano.

2.6.3 Enzimas específicas celulolíticas (11)

Sucesivamente actúan enzimas específicas en la degradación de la celulosa. Hay dos enzimas; la C1 y la Cx. - La primera produce la ruptura de la fibra celulolítica en cadenas más cortas pero insolubles, en cambio la segunda ataca ciertas cadenas para dar dos moléculas solubles y la presencia de una glucosidasa da finalmente glucosa asimilable. Las bacterias celulolíticas que disuelven las fibras deben poseer estas dos enzimas, en cambio hay otras bacterias celulolíticas que solamente poseen enzimas Cx, no pudiendo atacar mas que productos del catabolismo de los celulolíticos propiamente dichos. Este grupo es más abundante que el primero, los cuales son más raros.

2.6.4 Organismos que atacan celulosa

A pesar de que, tanto los hongos como los actinomicetos, pueden hidrolizar la celulosa forman un grupo muy reducido, en cambio las bacterias representan al grupo más numeroso. Según las características morfológicas y fisiológicas, estos organismos han sido agrupados de la siguiente manera:

1. Bacterias aerobias (mesófilas y termófilas)
2. Bacterias anaerobias (mesófilas y termófilas)
3. Myxobacterias
4. Actinomicetos
5. Hongos filamentosos (Aspergillus, Penicillium, Mucor, etc.)
6. Hongos superiores (agaricaceas)
7. Protozoarios
8. Insectos y otros animales.

2.6.4.1 Celulolíticos aerobios

Este grupo, aún es muy confuso, debido a los diferentes nombres dados a muchas especies iguales, está representado por Spirochaeta cytophaga de Hutchinson y Clayton, reclasificada por Winogradsky como Cytophaga hutchinsonii y por Krzemieniewska como Cytophaga mixococcoides. Es considerada la especie más representativa e importante de este gru-

po, la cual fue aislada de muestras de suelos en la estación experimental de Rothamsted en 1919. Esta especie ataca vigorosamente a la celulosa, realizando esta función en forma -- específica.

La descripción original dada por Hutchinson y Clayton es la siguiente: Bacterias que originalmente desarrollan como un filamento sinuoso, de 3 a 10 micras de largo por 0.3 a 0.4 de ancho, pasando por varios ciclos de vida, hasta dar una célula cocoidea o esporoidea. La germinación de esta -- última forma regenera la forma filamentosa primitiva flexible, ligeramente móvil, a pesar de no tener flagelos. Podemos mencionar, en segundo lugar, solamente como dato histórico, ya que fue el primer microorganismo aislado con la propiedad de destruir celulosa, al Bacterium ferrugineus de Van Interson, a pesar de que Rippel sostiene que esta especie es semejante a la anterior.

Este último autor describe la especie Itersonia ferruginea encontrada en suelos ricos en hierro y observó que para su desarrollo requiere la presencia de ciertas cantidades de sales de hierro y un pH óptimo de 8.0, debajo de pH - 4.5 no desarrolla.

Uno de los estudios más interesantes que se han realizado sobre este particular es el trabajo de Winogradsky --

sobre la degradación de la celulosa en el suelo, en el año - de 1929, pues aisla un numeroso grupo de bacterias celulolíticas, que se clasifican en los tres géneros siguientes:

Cytophagaceas. Bacterias filamentosas, de 3 a 8 mi cronas, flexuosas, con materia cromática en el centro; movilidad rampante y tiene un ciclo muy complejo, presentando mi croquistes y fases de reducción cromática. Reproducción pro bable por medio de arthrosporos. Función específica sobre la celulosa, la que utilizan como fuente hidrocarbonada.

1. Género Sporocytophaga. Representa, según ---- Krzemieniewska, formas de resistencia o microquistes, dife-- renciándose por esta particularidad de Cytophaga. Estos mi-- croquistes se presentan como grandes cocos con un gránulo -- central cuando se colora con eritrosina. Se observan una se rie de formas entre la célula vegetativa y el microquiste. El ciclo reproductivo comienza con un fenómeno de autogamia, se guido de un estado diploide con reproducción cromática y un estado haploide para dar microquistes que por germinación -- dan las formas vegetativas.

Se conocen dos especies: Sporocytophaga myxococcoi- des, con microquistes esféricos y Sporocytophaga ellipsospo- ra con microquistes ovals.

2. Género Cytophaga. Presenta formas filamentosas, con un gránulo cromático central pero no forma microquistes. Atacan fuertemente el papel filtro, desarrollando un pigmento amarillo - anaranjado y presentando en su desarrollo una consistencia mucosa.

La principal fuente de carbono es la celulosa y como fuente nitrogenada utilizan el nitrógeno mineral. Libe--
ran como producto metabólico elementos de gran peso molecu--
lar (poliurónidos). Desde el punto de vista biológico, pue--
de decirse que existe un grupo celulolítico fuertemente acti--
vo (Cytophaga y Cellvibrio) y otro ligeramente activo y polí--
fagos (Cellulomonas, Pseudomonas y Bacillus). El grupo acti--
vo desarrolla un papel celulolítico de gran importancia en -
el suelo, atacando la celulosa para dar complejos más sim---
ples y fácilmente utilizables por otros grupos microbianos.

Tiene dos géneros bién diferenciados; el uno forma--
microquistes (Sporocytophaga) y el otro no (Cytophaga). Es--
tas bacterias carecen de cilios y se desarrollan sobre la fi--
bra, orientadas en la misma dirección de los fibrillas, pu---
diéndose observar bajo el microscopio el ataque celulolíti--
co.

a) Cytophaga hutchinsonii. Es la especie más abun--
dante en el suelo. Forma pigmento amarillo. Utiliza celulo

sa, celobiosa y glucosa. Como fuente nitrogenada usa amoníaco, nitratos, peptona o asparagina. Catalasa positivo.

b) Cytophaga aurantiaca. Esta especie nueva produce manchas sobre el papel de filtro de color rosa anaranjado, a cuya característica debe su nombre. Es una bacteria filamentosa, sinuosa, pero no presenta o lo hace muy raramente, torsión del cuerpo. Es muy parecida morfológicamente a la especie anterior. Mide de 6 a 8 micrones de largo por 1- de ancho. Produce sobre el papel de filtro, en cultivo puro, un moco de color rojo.

c) Cytophaga rubra. Es un bastoncito recto, ligeramente arqueado y forma de coma, de unas 3 micras de largo. - Corresponde a una forma intermedia entre Cytophaga y Cellvibrio. Se caracteriza por formar una coloración rojo-amari-- llo sobre el papel de filtro.

d) Cytophaga lutea. Especie muy rara. Produce un moco amarillento brillante sobre el papel de filtro como -- Cytophaga hutchinsonii.

e) Cytophaga tenuisima. Especie aislada de tierras se Suecia. Sobre el papel filtro forma un moco de color ver

de oliva.

FORMAS NO ESPORULADAS

3. Género Cellvibrio (vibriones). Abundantes en -- tierras húmíferas y de cultivo. Bastoncitos de 2 a 5 micras de largo, de extremos redondeados, móviles monótricos. Propiedad celulolítica menor que las especies anteriores.

a) Cellvibrio ochracea. Denominada así porque colorea la fibra del papel de un tinte ocre. Es un bastoncito de extremos redondeados de 2 a 4 micrones de largo, son monótricos y de gran movilidad.

b) Cellvibrio flavescens. Bastoncitos de 2.5 a 5 - micrones de largo y 0.5 de espesor. Son móviles, dotados de un flagelo polar, igual que la especie anterior. En los cultivos viejos se encuentran formas redondeadas, igual que en Cytophaga. En cultivo puro, sobre papel filtro, da una coloración cremosa característica al principio y luego ligeramente marrón. La acción sobre la celulosa no es tan activa como en las especies anteriores.

c) Cellvibrio viridis. Especie muy difundida en el suelo, morfológicamente es parecida a un pequeño uso de 2 - micrones de largo y 0.7 de ancho. Son monótricas y tienen -

una gran movilidad. Sobre el papel filtro, producen manchas de color verde.

d) Cellvibrio mucosa. Presenta la forma de un uso-arqueado como un "cuarto de luna". Produce una coloración - crema claro sobre el papel filtro que permanece invariable, - aún después de envejecido el material. Se caracteriza por -- que forma una cantidad muy abundante de mucflago.

e) Cellvibrio fusca. De 1.2 a 2.5 micrones de lar-go por 0.5 de ancho. Muy parecida a la especie anterior, -- pero forma manchas marrón o "café con leche" sobre el papel-filtro y después de un tiempo se vuelve transparente, seco y se adhiere fuertemente si se encuentra en gel. Tiene gran - poder de ataque sobre la celulosa, destruyendo las fibras.

Además de los grupos mencionados, existen otras es-pecies celulolíticas pero de acción accidental y no específi-ca.

Ciertas bacterias, formadoras de sustancias antibi^oticas, como B. brevis, B. subtilis, B. polymixa, nitrifican-tes y algunas otras correspondientes al sub-grupo colon-aero genes, pueden producir destrucción de la celulosa como fun--ción no específica. Muchas otras formas bacterianas pueden utilizar indistintamente diferentes hidratos de carbono ade-

más de la celulosa.

Estas especies atacan poco al papel filtro, tienen forma de vibriones y fermentan una gran cantidad de azúcares, utilizan como fuente nitrogenada el nitrógeno mineral (amoniacal y nítrico). Los productos del metabolismo no son --- bien conocidos (ácidos orgánicos, poliurónidos y glucosa).

Cellulomonas y Pseudomonas. Son grupos no bien estudiados aún, de actividad celulolítica débil, fermentan numerosos azúcares. Son Gram negativos, cuyo pH óptimo se encuentra entre 6 y 7. Se conocen varias especies: Pseudomonas erythra, que forma un pigmento castaño rojizo; Ps. lasia, -- que forma pigmento amarillo sobre papel y agar almidón. Ambos son monótricos.

Achromobacter. Son bastoncitos inmóviles, gram negativos, no forman pigmento al atacar la celulosa. Se conoce una sola especie: Acromobacter picrum.

FORMAS ESPORULADAS. Se conoce una gran cantidad de especies esporuladas; son todas muy débilmente celulolíticas. Entre otras, podemos mencionar: Bacillus aprrhoeus, B. va---
gans, B. soli.

2.6.4.2 Celulolíticos anaerobios

Este grupo está representado por unas cuantas especies, muchas de las cuales no pudieron ser aisladas en cultivos absolutamente puros.

Según sus características morfológicas y fisiológicas, Prevot clasifica a las bacterias celulolíticas anaerobias en los siguientes géneros:

1. Gram positivo:

- a) esporo terminal: Género Plectridium.
- b) esporo subterminal: Género Clostridium.

2. Gram negativo:

esporo terminal

- a) inmóviles: Género Caduceus.
- b) móviles: Género Terminosporus.
Endosporus.

En el género Plectridium se encuentra Plectridium spumarum (Prevot y Pochon) y en el género Clostridium hay varias especies entre las cuales se encuentran Clostridium naviculum (*Amylobacter navicula*); Clostridium myxogenes, que fija nitrógeno atmosférico Clostridium mucosum, de poco poder celulolítico. En el género Caduceus se encuentra Cadu--

ceus cellulosae con dos especies, hidrogénica la una y metagénica la otra, descrita por Omeliansky en 1902.

Caduceus cellulosae dissolvens; (B. cellulosae dissolvens de Kouvine, 1923). Caduceus cellulosasolvens (Clostridium cellulosasolvens).

En Terminosporus se encuentra Terminosporus cellulosan fermentans (B. cellulosaeum fermentans Wermer); T. thermocellus; T. thermocellulolyticus, etc. Además Hungate (1950) ha descrito una serie de cepas las cuales no fueron clasificadas, denominandolas cepas B.C.D.E.F.I.

2.6.4.3 HONGOS CELULOLITICOS

Son, por lo general, especies pertenecientes a Basidiomicetos y Hongos Imperfectos, se les encuentra en suelos ácidos, donde son casi exclusivamente los que realizan esta función; sin embargo, pueden encontrarse también en suelos neutros, como Mycogone nigra, Coccospora agricola, etc. Tricoderma viride, Nemmoniella echinata, Aspergillus terreus se encuentran en suelos ácidos; son los representantes más activos, los cuales pueden desarrollar a pH entre 3.5 a 8. Según Winogradsky, los hongos generalmente aparecen en los cultivos sobre papel filtro un poco más tarde que las formas bacterianas, produciendo especialmente manchas grises, negras, verdes, rosadas o violetas: algunos generos son casi

todos celulolíticos, como por ejemplo en Chaetonium; en cambio en otros solamente algunos cuantos como en Penicillius.

Por regla general, las bacterias se encuentran desempeñando esta función celulolítica en los medios o suelos ligeramente ácidos o alcalinos, pH 6.0 a 9.1; los actinomicetos en los suelos con pH 5.5 a 9.5; en cambio los hongos desarrollan a pH mas bajos, muchos de ellos hasta pH 2.1 como por ejemplo, Trichoderma.

Una gran cantidad de hongos pueden también desempeñar esta función: Aspergillus, Penicillium, Rhizopus, Mucor, Monilia, Alternaria, Fusarium, Cladosporium y Merulius.

2.7 PRINCIPALES CARACTERISTICAS DE LOS ACTINOMICETOS (3) - (20)

Los actinomicetos son un grupo importante, no sólo por su frecuente presencia en la naturaleza como por sus propiedades fisiológicas particulares.

Al principio, los actinomicetos se incluyeron entre los hongos, a causa de su aspecto morfológico y del desarrollo semejante al de los hongos dotados de micelio verdadero,

por ello se les denominó (hongos radiados). Sin embargo, - después de estudios exhaustivos la opinión es de que los actinomicetos están más estrechamente relacionados con las bacterias que con los hongos..

Los actinomicetos son procariotes y no se encuen--- tran en éstos quitina ni compuestos celulósicos, característicos de las paredes celulares de los hongos verdaderos. Sus paredes celulares, están formadas por polímeros de azúcares, aminoazúcares y algunos aminoácidos al igual que las bacte-- rias Gram-positivas. La sensibilidad de los actinomicetos - frente a los bacteriófagos y a los antibióticos los coloca - también junto a las bacterias. Los actinomicetos deben considerarse como bacterias y para su clasificación se recomienda el empleo del Código Internacional de Nomenclatura de Bacterias y Virus. Los actinomicetos están comprendidos en el orden Actinomycetales.

Morfología de la colonia: una colonia de actinomice to cultivada sobre un medio sólido, está integrada por lo -- que denominamos; micelio vegetativo y micelio aéreo. Cuando falta éste último, la superficie de la colonia es lustrosa o mate. Si se forma micelio aéreo la superficie adquiere as-- pecto pulverulento o algodonoso. La estructura, forma, tama-- ño y el color de la colonia varían según los cambios de las condiciones de cultivo.

Las colonias de muchos estreptomicetes desprenden un olor a tierra húmeda característico. Se han identificado diversas sustancias, como el ácido acético, acetaldehído, etanol, isobutanol e isobutil acetato, principales sustancias responsables de dicho aroma peculiar.

2.7.1 CLAVE PARA LAS FAMILIAS Y GENEROS DEL ORDEN ACTINOMYCETALES (2)

I. No forman micelio aéreo; pueden producir filamentos ramificados; las células pueden ser bastoncillos, difteroides o cocoides; no forman esporas.

A. Son Gram-positivas; ácido-alcohol no resistentes; usualmente anaerobias facultativas; algunas anaeróbicas o aeróbicas.

FAMILIA I. ACTINOMYCETACEAE

GENERO I. Actinomyces

II. Arachnia

III. Bifidobacterium

B. Acido-alcohol resistentes, al menos en algún estado de crecimiento.

FAMILIA II. MYCOBACTERIACEAE

GENERO I. Mycobacterium

II. Formación de micelio aéreo verdadero.

- A. Simbiontes en nódulos de plantas con estado libre en el suelo.

FAMILIA III. FRANKIACEAE

GENERO I. Frankia

- B. Saprofitos o parásitos facultativos

1. Las esporas nacen en el interior de los esporangios.

FAMILIA IV. ACTINOPLANACEAE

GENERO I. Actinoplanes

II. Spirillospora

III. Streptosporangium

IV. Amorphosporangium

V. Ampullariella

VI. Pilimelia

VII. Planomonospora

VIII. Planobispora

IX. Dactylosporangium

X. Kitasatoa.

2. Las esporas no se forman en el interior del esporangio.

- a. Micelio filamentoso dividido transversalmente, elementos cocoides, micelio aéreo ausente.

FAMILIA V. DERMATOPHILACEAE

GENERO I. Dermatophilus

II. Geodermatophilus

- b. Micelio filamentoso comúnmente fragmentado para -- dar elementos cocoides o alargados que usualmente-- no son móviles. Ocasionalmente se producen espo-- ras aéreas.

FAMILIA VI. NOCARDIACEAE

GENERO I. Nocardia

II. Pseudonocardia

- c. Micelio filamentoso, tiende a permanecer intacto y no fragmentado. Usualmente abundante micelio aé-- reo y largas cadenas de esporas (5 - 50 ó más).

FAMILIA VII. STREPTOMYCETACEAE

GENERO I. Streptomyces

II. Streptoverticillium

III. Sporichthya

IV. Microellobosporia

- d. Micelio filamentoso permanece intacto; forma espo-- ras simplemente en pares o cadenas cortas. Mice-- lio aéreo presente, excepto es Micromonospora. -- Gram-positivos.

FAMILIA VIII. MICROMONOSPORACEAE

- GENERO
- I. Micromonospora
 - II. Thermoactinomyces
 - III. Actinobifidia
 - IV. Thermomonospora
 - V. Microbispora
 - VI. Micropolyspora

En los últimos años se han propuesto diversos nuevos géneros, pero no están plenamente reconocidos.

FISIOLOGIA

2.7.2 Metabolismo del carbono.

Los actinomicetos utilizan gran variedad de compuestos orgánicos como los azúcares, almidón, hemicelulosas, proteínas, etc. Hirsch (1960) citó algunas especies de nocardia y streptomyces como organismos oligocarbofilicos capaces de utilizar CO_2 . Ware y Painter (1955) aislaron y describieron un actinomiceto autotrófico estricto que es capaz de utilizar cianuro como fuente de carbono y de nitrógeno; parece corresponder a una especie de nocardia, otra peculiaridad de nocardia es la oxidación de benceno.

La capacidad de los actinomicetos para descomponer celulosa y otros polisacáridos está ampliamente extendida.

No se ha demostrado la presencia de enzimas celulolíticas - en Streptomyces ni en Nocardia; aunque desempeñan un importante papel en la descomposición de la celulosa.

2.7.3 Metabolismo del nitrógeno.

Las sales de amonio son en general preferidas. frente a los nitratos como fuente de nitrógeno mineral. Tanto la nitrificación como la reducción de los nitratos puede ser obra de algunos streptomyces (Kawato, Shinobu, 1960, 1961; - Hirsch, Overrein, Alexander, 1961).

Los actinomicetos producen muchas vitaminas, pigmentos y antibióticos, son organismos del suelo, aerobios excepto el género Actinomyces que es anaerobio o microaerofílico. La mayoría de los actinomicetos son mesófilicos pero el género Streptomyces tiene varias especies termófilas. Los actinomicetos termófilos se presentan básicamente en el estiércol y compostas.

El género Actinoplanes presenta la propiedad de descomponer la queratina.

La quitina es otro compuesto orgánico que puede ser utilizado como fuente de carbono y nitrógeno por muchos actinomicetos; gracias a la quitinasa.

En los procesos de formación de ácido húmico los actinomicetos desempeñan un papel importante. La degradación de los compuestos vegetales de molécula grande y la formación de sustancias precursoras de ácidos húmicos, son las principales funciones en cuanto al origen de los ácidos húmicos. Se ha demostrado que los microorganismos en general y diversas especies de *Streptomyces*, solamente producen sustancias húmicas, cuando son capaces de formar productos metabólicos quinoides con la intervención de fenolasas (Küster, 1955).

2.8 ANTAGONISMO MICROBIANO. (1) (19) (21)

Las interrelaciones antagónicas son muy comunes entre miembros de la población del suelo. Así un organismo directa o indirectamente puede tener efectos contrarios en la actividad de otro organismo. Estas interrelaciones pueden ser en resumen:

a) Competencia entre microorganismos por los nutrientes aprovechables. Esto puede ocurrir entre dos especies de bacterias o entre bacterias y hongos.

b) Creación de condiciones desfavorables por organismo, por cambios en la reacción del medio por producción de ácidos orgánicos (cítrico, oxálico, fumárico, butírico y láctico) o ácidos inorgánicos (como nítrico y sulfúrico):

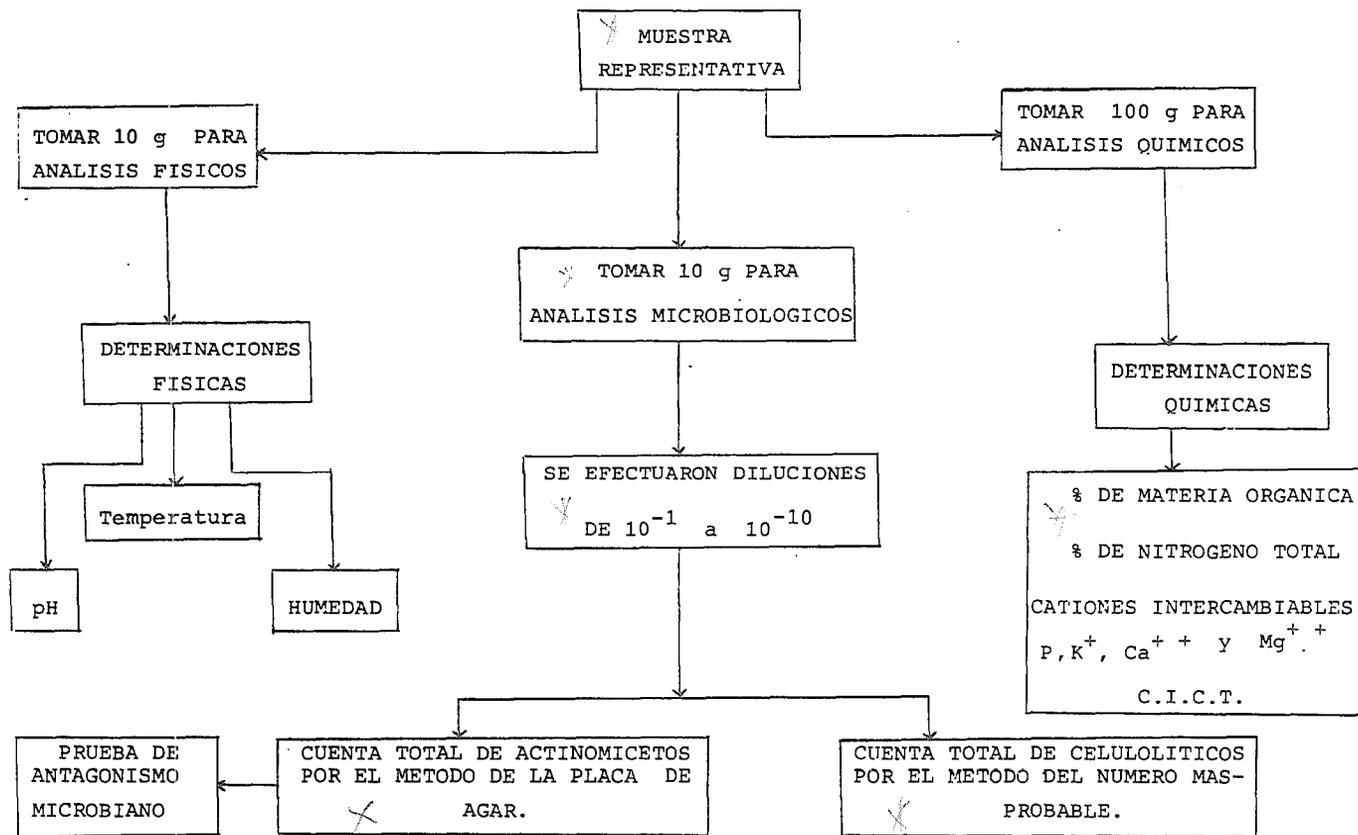
c) Producción por un microorganismo de sustancias específicas las cuales van en contra de otro grupo de organismos. Aquí corresponden compuestos bien definidos tales como: alcoholes y quinonas, así como numerosos antibióticos. Estas sustancias son frecuentemente clasificadas como toxinas del suelo. La naturaleza exacta de la mayor parte de éstas no está definida.

d) El parasitismo directo sobre otro organismo. -- Aquí vemos el efecto de hongos sobre bacterias o de bacterias sobre hongos o de hongos y nematodos sobre larvas de insectos. Uno de los aspectos significativos de parasitismo entre microorganismos del suelo es el ataque de varias bacterias y hongos sobre insectos parásitos de plantas y nemátodos.

e) Efecto antagónico. Muchos organismos son capaces de producir sustancias que van en contra de su propio desarrollo (isoantagonismo) o al desarrollo de otros organismos en proximidad inmediata (heteroantagonismo).

3 MATERIAL Y METODOS .

DIAGRAMA DE TRABAJO



3.1 CARACTERISTICAS DEL MATERIAL EMPLEADO Y MANEJO DE LOS BANCALES.

En este trabajo fueron utilizadas basuras de cocina y de jardín mezcladas, en un cincuenta porciento en peso, aproximadamente de cada uno. Los desperdicios de cocina fueron residuos sólidos de fácil descomposición de origen vegetal (principalmente) y animal; se eliminaron otros residuos sólidos como envolturas de plastico, bolsas de papel y latas. Los residuos de jardín en su mayor totalidad estuvieron compuestos por pasto y en menor porcentaje de hojarasca.

Los desperdicios se fragmentaron en pedazos, aproximadamente de 3 a 4 cm de largo, lo que facilitó el mezclado, el cual fue hecho a continuación. Este material se dividió en dos partes iguales en peso, y cada una de ellas se amontono por separado en lo que se llamará pila o bancal.

3.1.1 Colocación y descripción de los bancales.

Los bancales fueron colocados sobre una superficie plana de cemento, la forma que se le dió a los bancales fue la que corresponde a una sección trapezoidal. Los dos bancales quedaron a la intemperie.

DIMENSIONES DE LOS BANCALES: una vez terminada la formación de los bancales, presentaron las siguientes medidas:

BANCAL A (Testigo)	BANCAL B (Con tratamiento)
Base mayor 50 cm.	54 cm.
Base menor 45 "	38 "
Longitud 90 "	80 "
Altura 30 "	40 "

El bancal A se tomó como testigo de comparación, en el proceso de la degradación de la materia orgánica. El bancal B fue adicionado varias veces con macro y micro nutrimentos durante el proceso.

3.1.2 Tratamiento y manejo de los bancales

En ambos bancales el punto inicial del proceso de la descomposición de la materia orgánica, se registró en el momento de agregarles agua potable suficiente, de tal manera que permanecieron húmedos al tacto.

La variante entre el bancal A y el bancal B consistió en que el bancal B fue adicionado a razón de 10 g. por kg. de materia orgánica; a las 24 horas de haberse iniciado el proceso de composteo, a los 30 días y después periódicamente; con la siguiente fórmula que contiene los micro y --

macro nutrimentos.

SUSTANCIA	PORCENTAJE
Almidón	34.0
Sacarosa	20.0
Carbonato de calcio	10.0
Sulfato de amonio	10.0
Super fosfato	10.0
Cloruro de potasio	10.0
Sulfato de manganeso	1.0
Sulfato ferroso	1.0
Sulfato de magnesio	1.0
Sulfato de zinc	1.0
Molibdato de amonio	0.5
Acido bórico	0.5
Yoduro de potasio	0.5
Nitrato de cobalto	0.5

Los bancales se sometieron a volteos periódicos cada siete--
días durante todo el proceso de composteo.

3.1.3 Adiciones de micro y macro nutrimentos al banal " B "

ADICION	DIAS DE PROCESO
1a.	0
2a.	30
3a.	45
4a.	60
5a.	76
6a.	81
7a.	96

En total siete adiciones de nutrimentos durante el proceso de descomposición de la materia orgánica.

3.1.4 Forma de muestreo.

El muestreo se realizó cada 15 días para tener, de cada uno de los bancales una muestra representativa de aproximadamente doscientos gramos. Se tomaron muestras del centro del banal, de la base menor que se localizó en la parte superior del banal y de la base mayor que se localizó en la parte inferior del banal, estando los tres sitios de muestreo localizados en la parte media del banal; se procuró que todos los muestreos fueran hechos en los mismos sitios, con el objeto de disminuir hasta donde fuera posible las di-

ferencias, debido a lo heterogéneo del material. Las muestras fueron colocadas respectivamente en bolsas de polietileno, para transportarlas al laboratorio donde fueron examinadas.

De las muestras, una parte se destinó para los análisis microbiológicos y la determinación de las propiedades físicas, y la parte restante se secó a temperatura ambiente para los análisis químicos.

El lapso de la descomposición y transformación del material fue de diecisiete semanas o sea cuarenta y tres días, hasta que el material tomó un color oscuro, una consistencia granular y un olor a tierra.

3.2 MATERIAL DE LABORATORIO

Matraces de Kjeldahl de 500 ml.

Refrigerante.

Bureta de 50 ml.

Cajas de Petri de 10 x 100 mm.

Cristalería de laboratorio en general.

Termómetro Taylor -20 a 110°C

Microscopio E. Leitz Wetzlar No.

Cuenta colonias New Brunswick Scientific. Modelo No. C- 101

Autoclave Boekel 110 volts.

Espectrofotómetro de Emisión de Llama PERKIN - ELMER Coleman

139.

Espectrofotómetro Junior II Coleman Model 6/ 20.

Balanza Analítica.

Potenciómetro Bat LOW COLE PARMER DIGI-SENSE pH METER MODEL-
5985-40.

3.3 MEDIOS DE CULTIVO

3.3.1 Microorganismos Celulolíticos.

Medio de Dubos

Ingredientes	Concentración (g/l)
Fosfato dipotásico	1.0
Nitrato de Sodio	0.5
Sulfato de Magnesio	0.5
Cloruro de Potasio	0.5
Sulfato ferroso	0.01
Agua destilada.	1000.00 ml
Ajustar el pH a 7.5	

Se colocaron 9 ml del medio de Dubos en cada tubo de cultivo y dentro de cada tubo una tira de papel filtro de 1 cm. de ancho por 9 cm. de largo, se taparon con algodón y se esterilizaron a 15 lb. durante 15 minutos.

3.3.2 Actinomicetos.

Medio Agar-Dextrosa Caseinato de Sodio (Aislamiento)

Ingredientes	Concentración (g/l)
Dextrosa	2.0
Caseinato de sodio	0.2
Fosfato dipotásico	0.5
Sulfato de magnesio	0.2
Cloruro férrico	0.01
Agar	15.00
Agua destilada	1000.00 ml.
Ajustar el pH de 6.5 a 7.0	

Este medio se esterilizó a 15 lb. de presión, -
120°C, durante 20 minutos y posteriormente se colocaron de -
10 a 12 ml del medio en cajas de Petri estériles.

Agar Nutritivo (Antagonismo microbiano)

Ingredientes	Concentración (g/l)
Extracto de carne	3.0
Peptona	5.0
Agar	15.0
Agua destilada	1000.00 ml.
Ajustar el pH de 6.8 a 7.0	

El medio anterior se esterilizó a 15 lb. de presión,
durante 20 minutos. Se prepararon tubos de cultivo con este

medio y también cajas de Petri.

3.4 METODOLOGIA PARA LOS ANALISIS MICROBIOLOGICOS (7) (9) -
(12) (19) *

La cuantificación de la microflora total se realiza en cultivos o mediante un examen microscópico directo. Para esta finalidad en el presente trabajo se siguieron los métodos de cultivo; utilizando las técnicas de dilución en tubo y en placa de agar.

3.4.1 Diluciones de las muestras.

Se pasaron 10 g de muestra y se colocaron dentro de un frasco que contenía 90 ml de agua estéril, se agitó vigorosamente durante diez minutos considerándose como una dilución 1:10. Después se dejó reposar para sedimentar el material insoluble y de esta dilución se transfirieron 10 ml a otro frasco que contenía 90 ml de agua estéril, obteniendo se una dilución 1:100, la anterior operación se repitió para obtener diluciones en serie hasta 10^{-10} , tanto del bancal A como del B.

3.4.2 Método de los tubos por dilución a extinción. *

La cuantificación de la población de los microorganismos celulolíticos se efectuó por medio del cálculo sobre el número más probable de bacterias, método de Mac Crady. El método consistió en sembrar cinco tubos, por cada dilución de la muestra, incubar y anotar el número de tubos positivos, cada tubo positivo contiene por lo menos un germen que es responsable del cultivo. A continuación se sacó el número característico, éste se halla representado por tres cifras; la dilución menos concentrada en donde todos los tubos son positivos, será la primera cifra del número característico. Para la determinación del número más probable de bacterias dirigirse a la tabla de Mac Crady o a la de Cochran.

3.4.3 Método de la placa de agar. *

Este método se empleó para cuantificar la población de actinomicetos presentes en los banales A y B.

3.4.4 Método para el estudio de microorganismos antagonistas.

Los métodos de estudio para los microorganismos antagonistas son muy diversos. En unos es preciso aislar y luego investigar sus propiedades antagónicas frente a uno o varios gérmenes de prueba. En otros el estudio se puede efectuar simultáneamente, es decir se dejaron desarrollar las colonias diversas en un medio rico observando cuales de-

ellas inhiben el crecimiento de otras; de ésta manera, posteriormente se aíslan los gérmenes más activos y después se -- puede ampliar el estudio de su espectro antimicrobiano.

Entre los procedimientos más comúnmente empleados - podemos mencionar: a) el método de la estría cruzada, b) el método de las estrias alternas, c) el método de los discos - de agar, d) el método de las estrias radiales superpobladas, f) el método del celofán sobre agar y g) el método de inoculación por rocío.

El método usado en este trabajo fue el de la estría cruzada de Garré. Consistió en sembrar el antagonista en -- una estría recta en la placa de agar que contiene el medio - favorable para el desarrollo, tanto del antagonista como de los microorganismos de prueba. Después de sembrado el antagonista se incubó a una temperatura de 28 a 30°C durante cinco días, que es tiempo suficiente para su desarrollo y difusión del principio activo en el medio; posteriormente se sembraron las bacterias de prueba en ángulo recto, en relación-- a la estría de desarrollo del antagonista, se incubó nueva-- mente a 37°C durante 24 horas y se efectuaron las lecturas correspondientes, en milímetros de inhibición del crecimiento de los microorganismos de prueba.

3.5 FORMA EN QUE SE REALIZARON LOS ANALISIS MICROBIOLOGICOS

3.5.1 Microorganismos celulolíticos.

Inoculación. Se transfirió un mililitro de cada dilución a tubos con medio de Dubos para los microorganismos celulolíticos, se inocularon cinco tubos por cada dilución, se agitaron cuidadosamente.

Incubación. Una vez inoculados los tubos, éstos se incubaron por treinta días a 28°C. Durante el período de incubación se agitaron cuidadosamente los tubos, una vez por semana.

Lectura. Al final de la incubación, se agitaron los tubos y se anotaron los que dieron lectura positiva, la cual se reconoció porque el papel filtro se desintegró o se partió por la mitad. Para la interpretación de los resultados se consultó en la tabla de Mac Crady.

El cálculo del número de microorganismos celulolíticos por gramo de materia orgánica seca, se obtuvo como sigue: el número más probable de microorganismos celulolíticos se divide entre el peso seco obtenido de un gramo de muestra húmeda secada a peso constante.

3.5.2 Actinomicetos.

Inoculación. De cada dilución de la muestra se to-

mó un mililitro y se transfirió a una caja de Petri estéril, se inocularon tres cajas por cada dilución, y se adicionó a cada caja 12 ml del medio Agar dextrosa caseinato de sodio - (Jensen, 1930) a 45°C, se procedió a homogeneizar y dejar - que solidificara el medio.

Incubación. Se incubaron las cajas, invertidas, a una temperatura de 28 a 30°C, durante un tiempo que osciló - entre siete a diez días.

Lectura. Al final del período de incubación, se se leccionaron las cajas que presentaron colonias de actinomicetos bien aisladas, cuyo número osciló entre 30 a 300 colonias por caja, para contarlas. Las colonias de actinomicetos pueden ser reconocidas por su aspecto compacto, de superficie rugosa, adheridas profundamente al medio y generalmente cubiertas por un polvo de diverso color.

El cálculo del número de actinomicetos por gramo de materia orgánica seca se obtuvo como sigue: Se multiplica - la media aritmética, del número de colonias por caja, por el factor de dilución correspondiente, el producto se divide entre el peso seco obtenido de un gramo de materia orgánica húmeda secada a peso constante.

3.5.3 Prueba de antagonismo microbiano.

Se aislaron doce cepas de actinomicetos que se presentaron con mayor frecuencia, en las placas de agar para cuenta total de éstos, a los cuales se les efectuó la prueba de Garré para ver su actividad antagónica. Las cepas bacterianas de prueba fueron:

Salmonella typhi

Escherichia coli

Pseudomona aeruginosa

Proteus mirabilis

Staphylococcus aureus

La prueba se efectuó como sigue: se inoculó el diámetro de la placa de agar nutritivo en estría con la suspensión de esporas del actinomiceto, se incubaron las cajas a una temperatura de 28°C durante cinco días. Se prepararon suspensiones acuosas de los microorganismos de prueba y se inocularon perpendicularmente a la estría de desarrollo del actinomiceto. Se incubaron las cajas a una temperatura de 37°C durante 24 horas, pasado este tiempo se hizo la observación de la inhibición en el crecimiento de las cepas bacterianas de prueba. La distancia de inhibición se midió en milímetros.

3.6 METODOLOGIA PARA LOS ANALISIS FISICO-QUIMICOS DETERMINACIONES FISICAS (11)

3.6.1 Temperatura.

Esta variable se determinó en los días del muestreo, introduciendo un termómetro Taylor -20 a +150°C en los sitios de donde se tomó la muestra. Se registró la media aritmética de las lecturas en cada caso.

3.6.2 pH

Se pesó 1 g de muestra y se diluyó con 25 ml de agua destilada, se agitó por cinco minutos y se dejó sedimentar. Se hicieron las lecturas con el potenciómetro.

3.6.3 Humedad.

Se colocó 1 g de muestra en un pesafiltro y se seco en la estufa a 95°C hasta peso constante. Se refiere la pérdida de peso en por ciento, esto se hizo en cada muestreo, y los resultados de las pruebas microbiológicas y químicas se calcularon en relación a éstos datos.

DETERMINACIONES QUIMICAS

Los siguientes análisis químicos se realizaron en las muestras secadas al aire, disgregadas en un molino y ho-

mogeneizadas por mezcla.

3.6.4 Materia orgánica.

Método de Walkley y Black (vía húmeda) (16) (23)

3.6.5 Nitrógeno Total.

Método de Kjeldahl (16) (22)

3.6.6 Relación C/N (16) (18)

3.6.7 Fósforo intercambiable.

Método de Olsen (16)

De la muestra el fósforo es extraído con bicarbonato de sodio 0.5M, el fósforo así extraído se determina colorimetricamente. El método consiste en la obtención del color azul del producto de reducción del ácido molibdo-fósforico mediante cloruro estannoso, en un medio adidificado con ácido clorhídrico. Las lecturas se efectúan a 660 nm.

Reactivos: NaHCO_3 0.5M, ajustar a un pH 8.5 con NaOH. Agregar aceite mineral para evitar el contacto o exposición con el aire.

Carbón negro, Darco G-60. El carbón negro debe lavarse con el reactivo de NaHCO_3 0.5M después con agua destilada y secar.

Solución estandar de fósforo. Disuélvase 0.2195 g de KH_2PO_4 en agua y diluyase a 1000 ml. Esta solución tiene 50 ppm, preparese una segunda solución que contenga 5 ppm de fósforo.

Solución de molibdato de amonio. Disolver 15 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 300 ml de agua destilada caliente. Filtrar si es necesario y agregar a la solución después de enfriar 342 ml de ácido clorhídrico concentrado con agitación gradual, diluir a 1000 ml. Esta solución contiene 50 ml extra de ácido clorhídrico concentrado para neutralizar el NaHCO_3 de la solución extractora del suelo.

Solución patrón de cloruro estannoso. Disolver 10-g de $\text{SnCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 25 ml de ácido clorhídrico concentrado, usar cristales grandes en vez de polvo fino, prepararlo fresco cada dos meses por lo menos.- Guarde sobre una atmósfera de hidrógeno generada al reaccionar zinc metálico y ácido clorhídrico.

Solución diluida de cloruro estannoso. Añadir 0.5-ml de la solución patrón concentrada a 66 ml de agua destilada. Preparar el patrón diluido para cada lote de determinaciones.

Método: Se colocaron 5 g de la muestra seca y una cucharilla de carbón negro con 100 ml de NaHCO_3 0.5M en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se agitaron por treinta minutos. Se filtró a través de papel filtro Whatman No. 40, se agregó más carbón negro en caso necesario para obtener un filtrado claro, se colocó una alícuota de 5 ml del filtrado correspondiente a una fracción definida de la muestra original, en un matraz volumétrico de 25 ml. enseguida se adicionó 5 ml de la solución de molibdato de amonio a cada matraz y se mezcló, se lavó hacia abajo del cuello del matraz para evitar el contacto directo de la solución concentrada de molibdato de amonio y de cloruro estannoso, se diluyó poco más o menos a 22 ml con agua destilada, se agregó 1 ml de la solución diluida de cloruro estannoso, se mezcló inmediatamente, se aforó al volumen con agua destilada y se agitó fuertemente. Se leyó la intensidad de color en un colorímetro, diez minutos después de la adición de la solución estándar de fósforo.

Curva de calibración:

ml de solución calibrada							
de fósforo (5 ppm)	1	3	5	7	10	12	14
ppm de fósforo	0.2	0.6	1.0	1.4	2.0	2.4	2.8

para desarrollar el color, agregar en el siguiente orden.

ml de NaHCO_3 0.5M	5	5	5	5	5	5	5
ml de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5	5	5	5	5	5	5
ml de agua destilada	13	11	9	7	1	2	0
ml de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ diluído	1	1	1	1	1	1	1

Reposar durante diez minutos. Leer a 660 nm.

3.6.8 Cationes metálicos intercambiables K^+ , Ca^{++} y Mg^{++} (16)

El método de elección para la determinación de los cationes metálicos intercambiables fue el de espectrometría de emisión, el cual está basado en la determinación de la intensidad de las líneas espectrales. Los espectros de emisión pueden ser considerados como una gráfica en que se presenta la intensidad de las radiaciones en función de la longitud de onda. El espectrofotómetro de emisión de llama utiliza una temperatura de excitación relativamente baja y mide mediante una celda fotoeléctrica la intensidad de emisión, dentro de un intervalo de longitudes de onda seleccionado, que corresponde a un determinado elemento. La espectrofotometría de emisión de llama es un método comparativo desde el punto de vista cuantitativo, que compara la cantidad de emisión del problema, para un determinado dispositivo instrumental, con la de una cantidad conocida del elemento a determinar.

Reactivos: Acetato amónico 1N pH neutro.

Acido clorhídrico concentrado.

Cloruro de potasio.

Calcita; CaCO_3

Magnesio metálico

Método: Procedimiento de extracción de cationes intercambiables por centrifugación, este procedimiento es rápido y conveniente cuando se utilizan métodos semimicroquímicos de determinación.

Se pesó una muestra de 4 g y se transfirió a un tubo de centrifuga de 50 ml, enseguida se añadieron 33 ml de una solución neutra de acetato amónico 1N, se tapó el tubo y se agitó la suspensión mediante un agitador mecánico durante 5 minutos. Se quitó el tapón y se centrifugó a 2000 rpm hasta que el líquido sobrenadante estuvo claro, por unos cinco minutos aproximadamente. Se decantó el líquido sobrenadante pasandolo a un matraz aforado de 100 ml.

Se volvió a extraer la muestra mediante dos porciones más de 33 ml cada una de NH_4OAc 1N, decantando el líquido sobrenadante y recogiénolo en el mismo matraz aforado. Se aforó y se mezcló, procediendo enseguida a la determinación de los cationes extraídos. La solución anterior se analizó directamente mediante el espectrofotómetro de emisión -

de llama. El potasio se leyó a una longitud de onda de 770 nm, el calcio a 554 nm y el magnesio a 385 nm; determinando en cada caso el % de extinción.

Curva patrón de potasio. 770 nm.

Se pesan 1.907 g de KCl y se llevan a un litro de agua destilada para tener una solución de 1000 ppm de potasio en un litro.

ml de solución estándar de K^+	ml de agua	ppm de K^+
0	100	0
1	99	10
2	98	20
4	96	40
6	94	60
8	92	80
10	90	100

Curva patrón de calcio. 554 nm.

Se pesan 2.5 g de calcita transparente ($CaCO_3$) se le agregan 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y se hierve la disolución para expulsar el CO_2 diluyendo, seguidamente, con agua hasta un litro, para obtener una solución de 1000 ppm de calcio.

ml de solución estándar de Ca^{++}	ml de agua	ppm de Ca^{++}
0	100	0
1.25	98.75	12.5
2.5	97.5	25
3.75	96.25	37.5
5.0	95	50
6.25	93.75	62.5
7.5	92.5	75.0
8.75	91.25	87.5
10.0	90.0	100.0

Curva patrón de magnesio. 385 nm

Se pesan 2 g de Mg metálico y se disuelven con ácido clorhídrico concentrado, se diluye hasta un litro con lo cual se obtiene una solución de 2000 ppm de magnesio.

ml de solución estándar de Mg^{++}	ml de agua	ppm de Mg^{++}
2.5	97.5	50
5.0	95.0	100
10.0	90.0	200
15.0	85.0	300

3.6.9 Capacidad de Intercambio Catiónico Total. (16)

Los minerales del suelo y las partículas orgánicas coloidales tiene cargas negativas de valencia que les permiten retener cationes dissociables y son por tanto electrolitos coloidales.

La determinación de la capacidad de intercambio de cationes supone el medir la cantidad total de cargas negativas por unidad de peso del material. Consiste en: la saturación de las cargas de intercambio con una solución de acetato de potasio 1 N; eliminación del exceso de sales con un disolvente libre de electrolitos, alcohol al 95%; desplazamiento del catión intercambiable mediante una solución de un segundo catión intercambiable saturante, acetato amónico a pH neutro. El acetato amónico es una buena solución desplazante; ya que permite analizar directamente por el método de emisión de llama, el K^+ que pasa a éste por intercambio, en la solución obtenida.

Reactivos: Solución de acetato de potasio 1N.

Solución de acetato amónico 1N a pH neutro.

Etanol al 95%.

Método: Se pesaron 0.1 g de muestra, se lixivió sucesivamente, sobre un embudo Buchner en el que se puso un papel filtro Whatman No. 42, con 40 ml de acetato de potasio

LN, 40 ml de etanol del 95% y 40 ml de acetato amónico, recogiendo el filtrado, aforandolo a 40 ml y determinando el K^+ que paso al acetato amónico por intercambio, mediante la espectrofotometría de emisión de llama.

4 "RESULTADOS"

TABLA No. 1

NUMERO DE MICROORGANISMOS CELULOLITICOS Y ACTINOMICETOS QUE SE OBTUVIERON POR GRAMO DE MUESTRA SECA EN EL PROCESO DE COMPOSTEO.

MUESTRA	DIAS DE PROCESO	CELOLITICOS 10^6		ACTINOMICETOS 10^6	
		A	B	A	B
0	1	0.044	0.044	11.93	11.93
1	14	0.016	0.004	0	0
2	29	0.007	0.006	6.87	3.37
3	44	0.071	0.053	34.07	5.31
4	59	0.124	0.907	2.29	4.04
5	79	0.080	0.220	4.06	1.70
6	93	0.089	0.814	24.41	3.33
7	109	0.058	0.058	70.07	24.12
8	123	0.610	0.734	145.03	183.52

A= Bancal A

B= Bancal B

TABLA No. 2

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ANTAGONISMO MICROBIANO

A los actinomicetos aislados, se les asignó arbitrariamente la numeración del 1 al 12 para distinguirlos. De los resultados observados se puede decir que todos los actinomicetos probados presentaron antagonismo frente a Pseudomona aeruginosa. La cepa de actinomiceto No. 7 presentó además antagonismo frente a Staphylococcus aureus inhibiendo totalmente su crecimiento. El resto de las cepas probadas; Escherichia coli, Salmonella typhi y Proteus mirabilis no fueron inhibidas en su crecimiento por ningún actinomiceto probado.

Actinomicetos	Cepa bacteriana	mm. de inhibición
1	<u>Pseudomona aeruginosa</u>	15
2	" "	17
3	" "	13
4	" "	12
5	" "	10
6	" "	8
7	" "	25
8	" "	14
9	" "	17
10	" "	16
11	" "	10
12	" "	10

TABLA No. 3

RESULTADOS DE LOS ANALISIS FISICOS EN EL PROCESO DE COMPOSTEO.

MUESTRA	DIAS DE PROCESO	pH		% de HUMEDAD		TEMPERATURA °C	
		A	B	A	B	A	B
Inicial	0					25	25
0	1	7.10	7.10	73.18	73.18	45	50
1	14	8.35	8.75	74.44	64.43	33	36
2	29	9.25	9.35	75.70	55.68	24	26
3	44	9.25	9.30	71.80	62.34	24	27
4	59	9.20	9.25	67.90	69.0	25	28
5	79	9.60	9.15	69.06	63.65	23	25
6	93	9.80	9.35	71.80	69.31	21	22
7	109	9.55	9.10	65.32	58.54	21	21
8	123	9.70	9.30	73.80	75.48	21	21

A = Bancal A

B = Bancal B

TABLA No. 4

RESULTADO DE LOS ANALISIS QUIMICOS EN BASE SECA EN EL PROCESO DE COMPOSTEO.

MUESTRA	DIAS DE PROCESO	M.O. TOTAL %		N ₂ TOTAL %		C/N	
		A	B	A	B	A	B
0	1	72.22	72.22	1.90	1.90	22.04	22.04
1	14	65.57	58.99	2.26	2.84	16.82	12.04
2	29	64.80	60.80	2.61	2.68	14.40	13.15
3	44	65.55	56.84	2.27	2.19	16.74	15.05
4	59	53.97	50.60	2.65	2.47	11.81	11.88
5	79	58.70	58.13	2.05	2.35	16.60	14.34
6	93	51.92	48.98	2.10	2.40	14.34	11.83
7	109	54.69	49.37	1.99	2.26	15.94	12.67
8	123	51.35	54.76	2.17	2.26	13.72	14.05

M.O. TOTAL % = Materia orgánica total en porciento.

N₂ TOTAL % = Nitrógeno total porciento.

C/N = Relación carbono nitrógeno.

A = Bancal A

B = Bancal B

TABLA No. 5

RESULTADO DE LOS ANALISIS QUIMICOS DE LOS IONES INTERCAMBIABLES EN EL PROCESO DE COMPOSTEO.

MUESTRA	DIAS DE PROCESO	P ppm	K meq/100	Ca ⁺⁺ meq/100	Mg ⁺⁺ meq/100	C.I.C.T. meq/100
0	1	41.0	1.02	2.14	1.05	32.73
4A	59	46.6	1.53	0.748	0.79	48.08
4B	59	51.4	1.53	0.748	0.913	50.12
8A	123	46.0	1.89	1.19	1.05	60.25
8B	123	49.0	2.02	0.748	1.10	58.85

P (ppm) = Fósforo canjeable en partes por millón

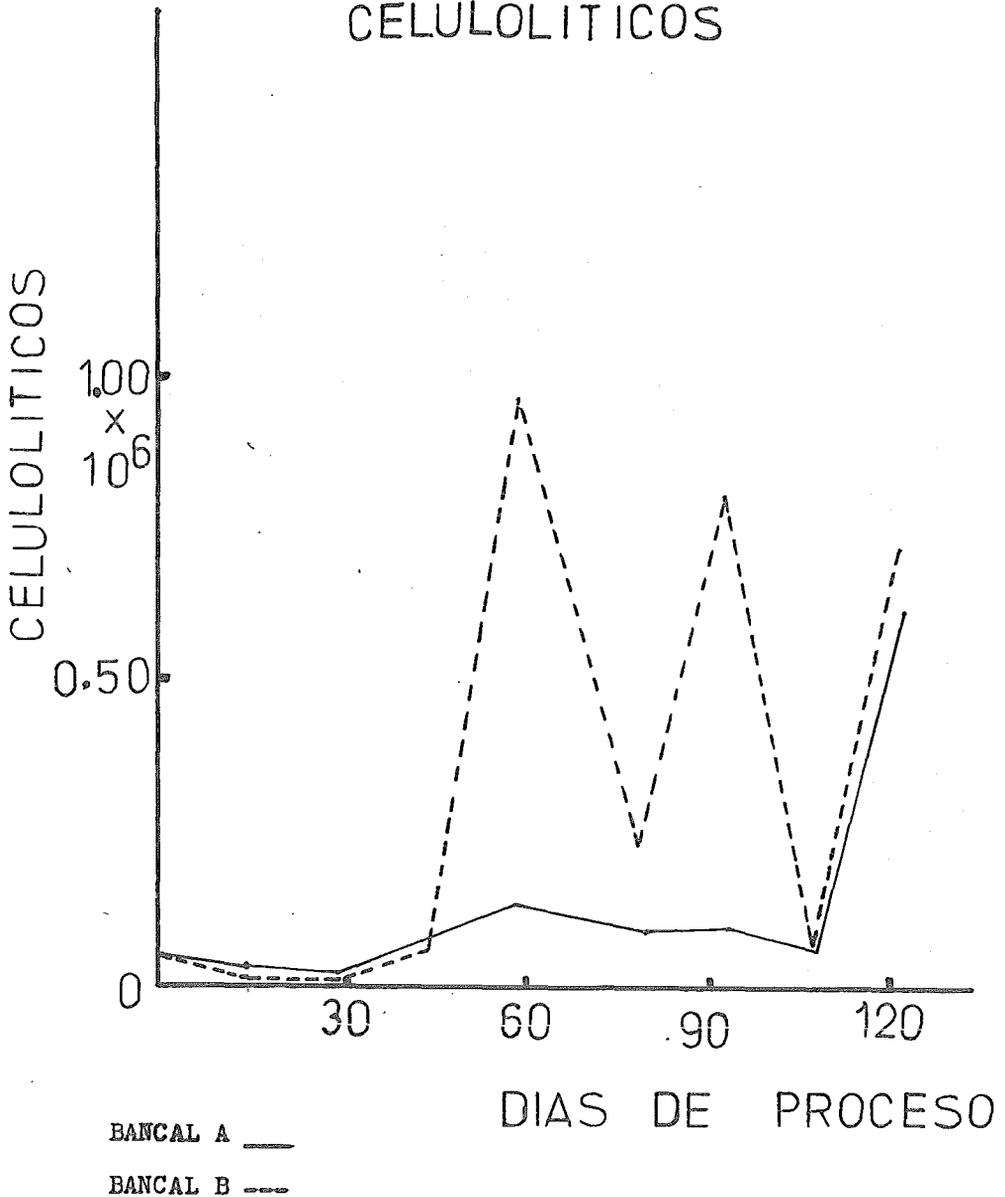
K⁺ meq/100 = Potasio intercambiable en miliequivalentes por 100 g de muestra.

Ca⁺⁺ meq/100 = Calcio intercambiable en miliequivalentes por 100 g de muestra.

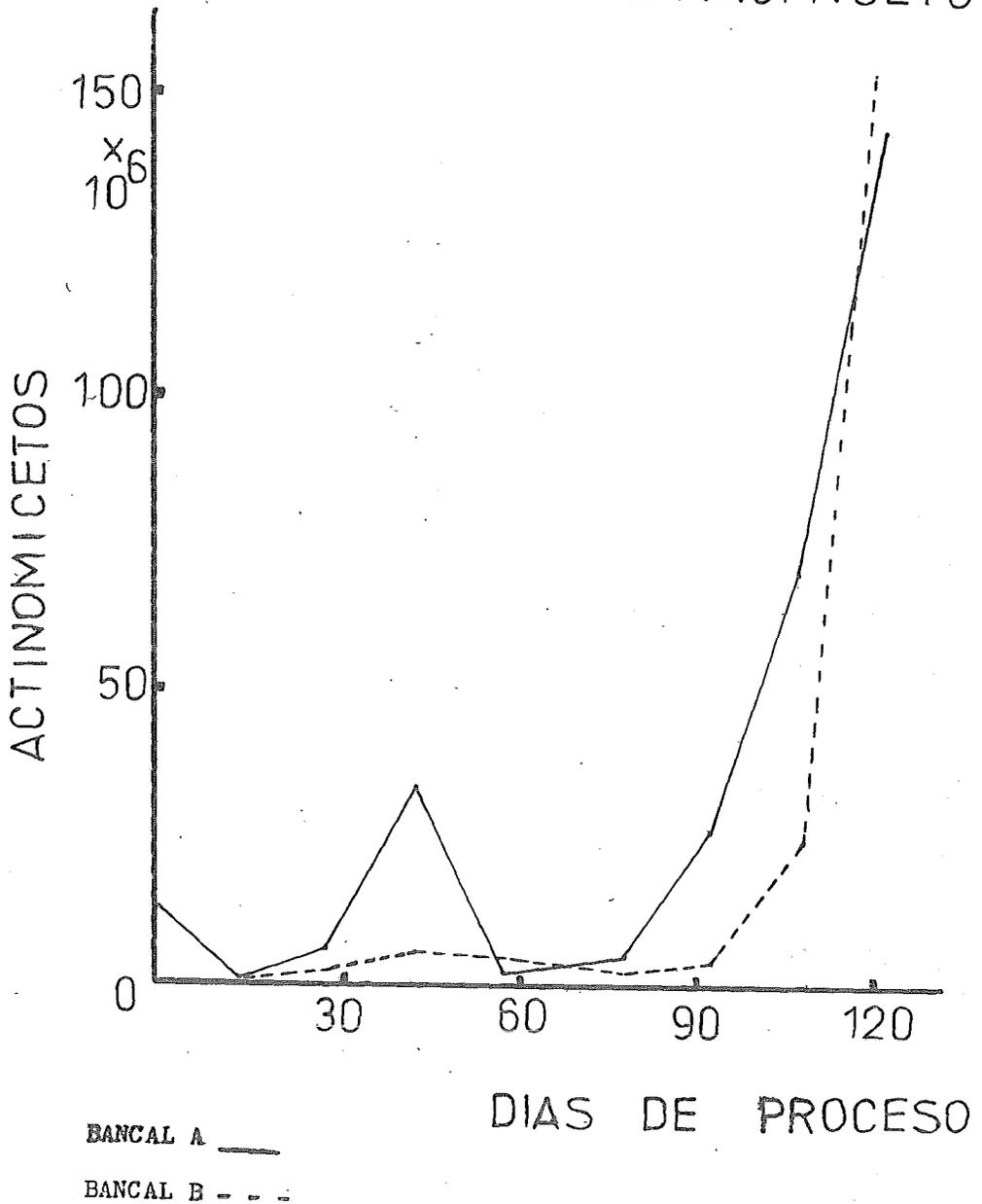
Mg⁺⁺ meq/100 = Magnesio intercambiable en miliequivalentes - por 100 g de muestra.

C.I.C.T. = Capacidad de intercambio catiónico total en miliequivalentes por 100 g de muestra.

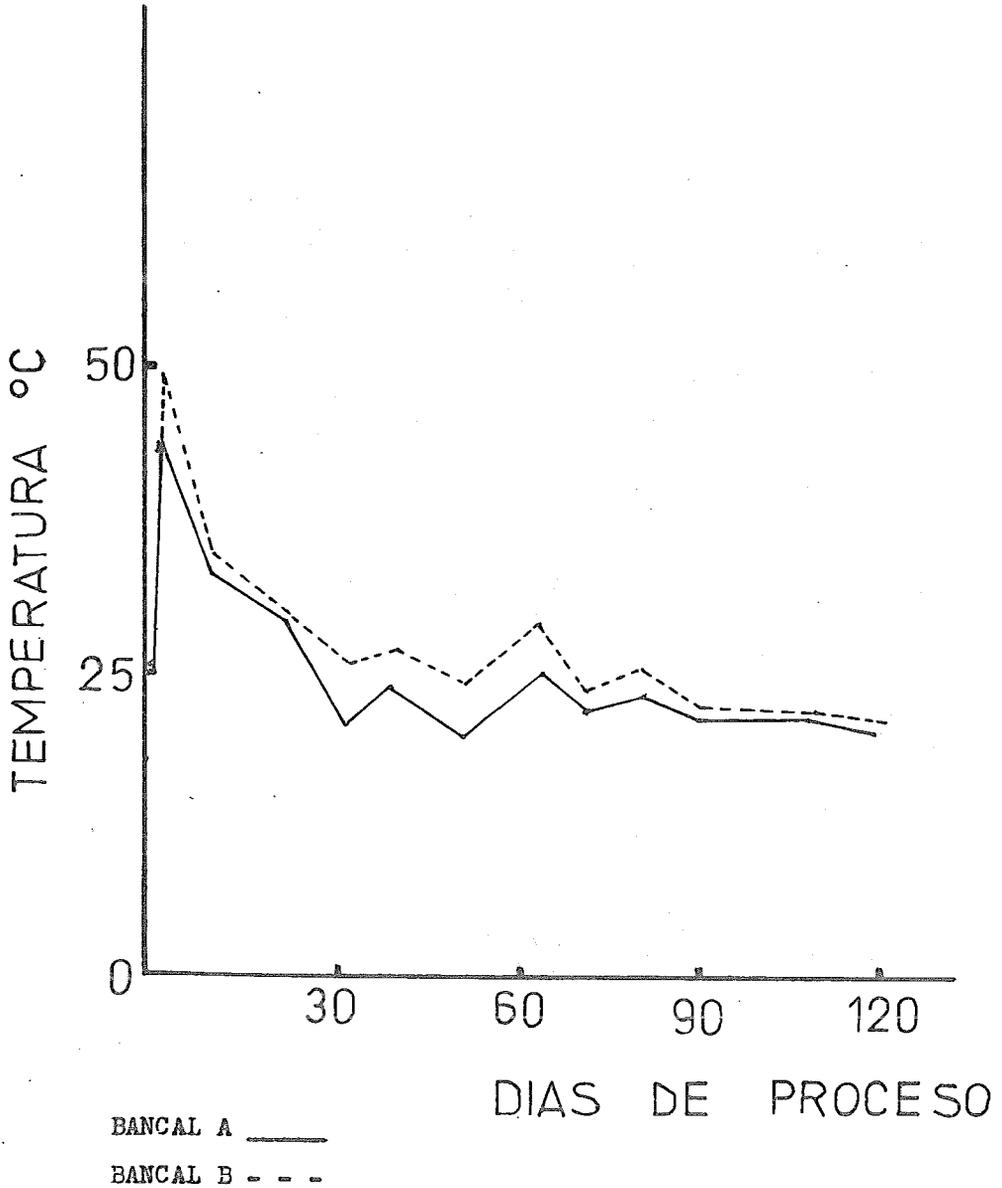
GRAFICA No. 1

VARIACION DE MICROORGANISMOS
CELULOLITICOS

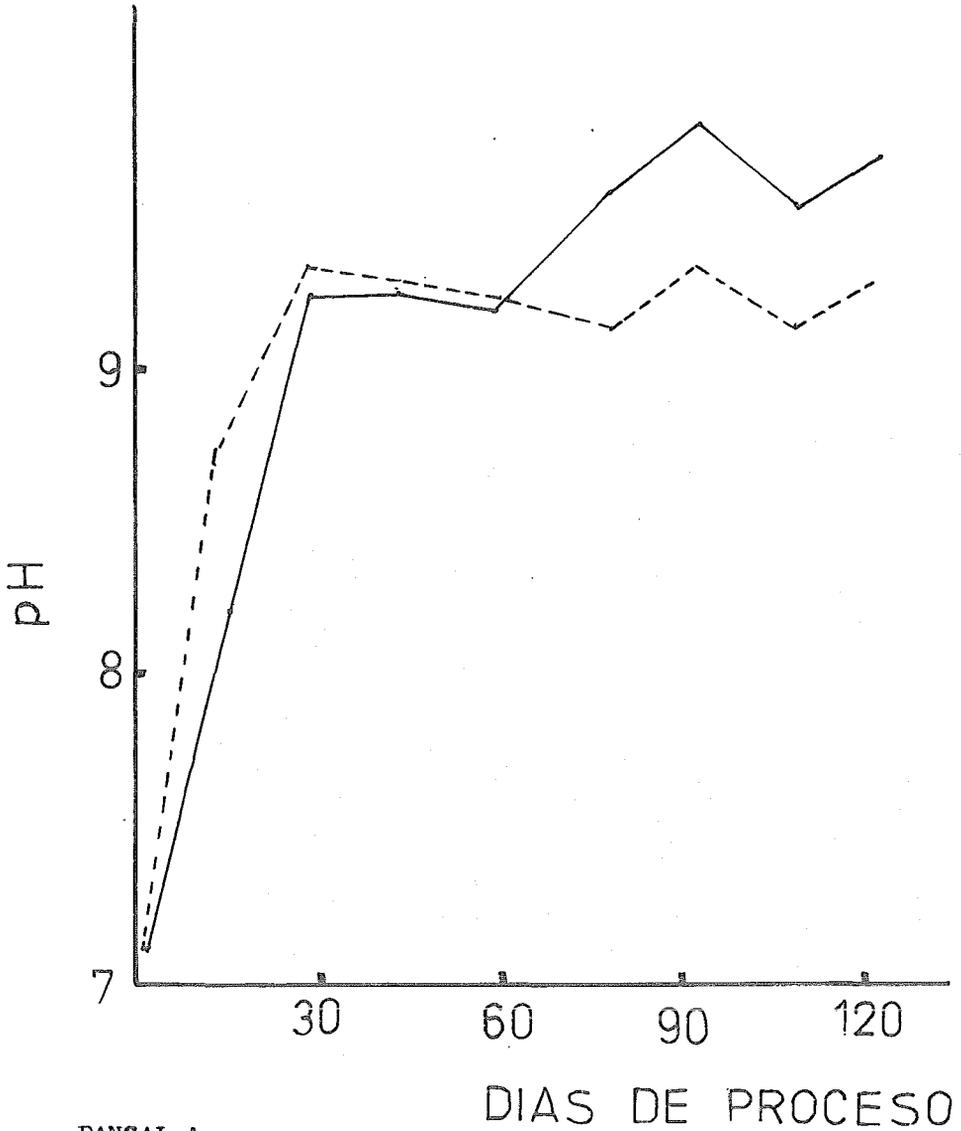
GRAFICA No. 2
VARIACION DE ACTINOMICETOS



GRAFICA No. 3
VARIACION DE TEMPERATURA



GRAFICA No.4
VARIACION DE pH

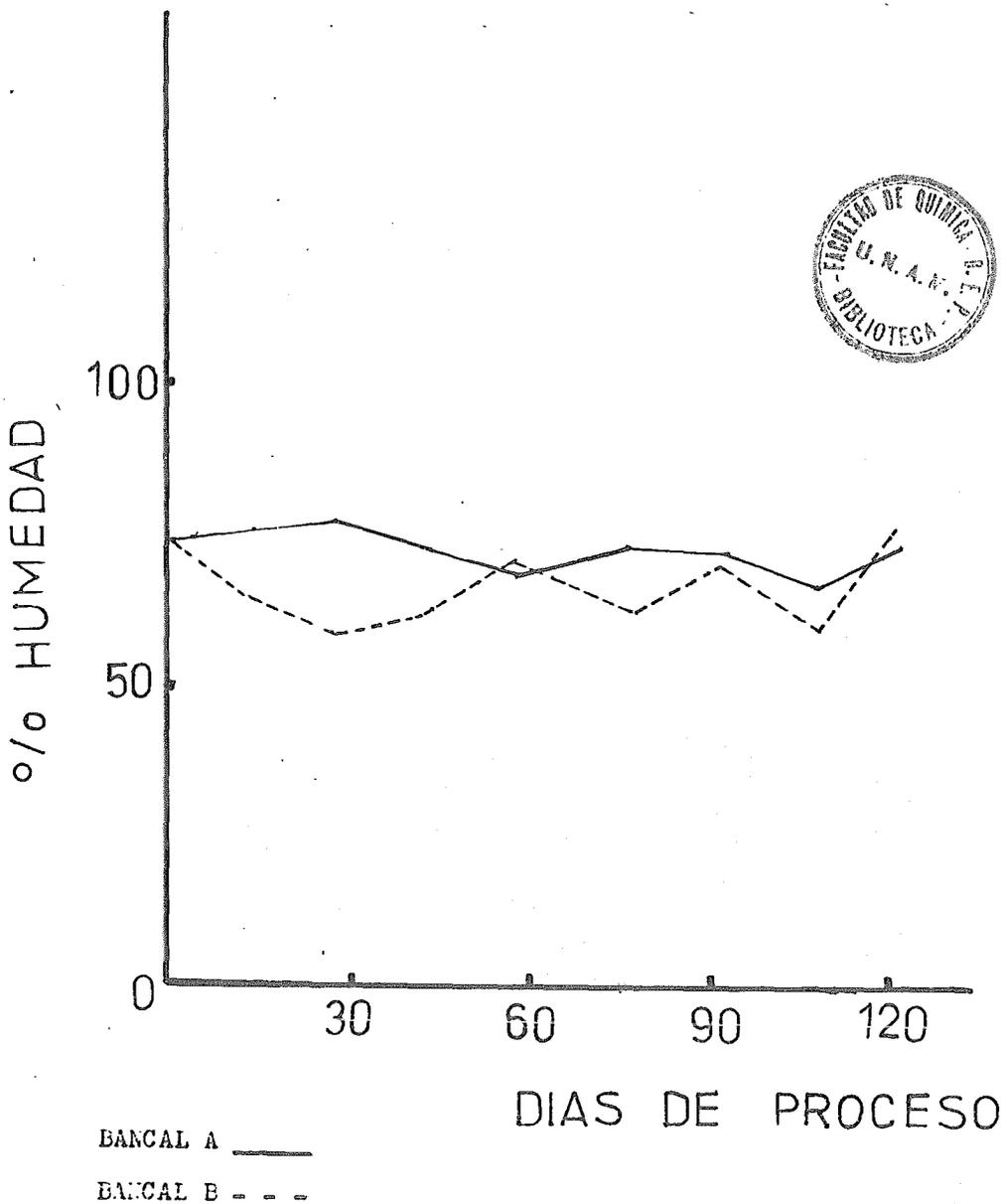


BANCAL A ———

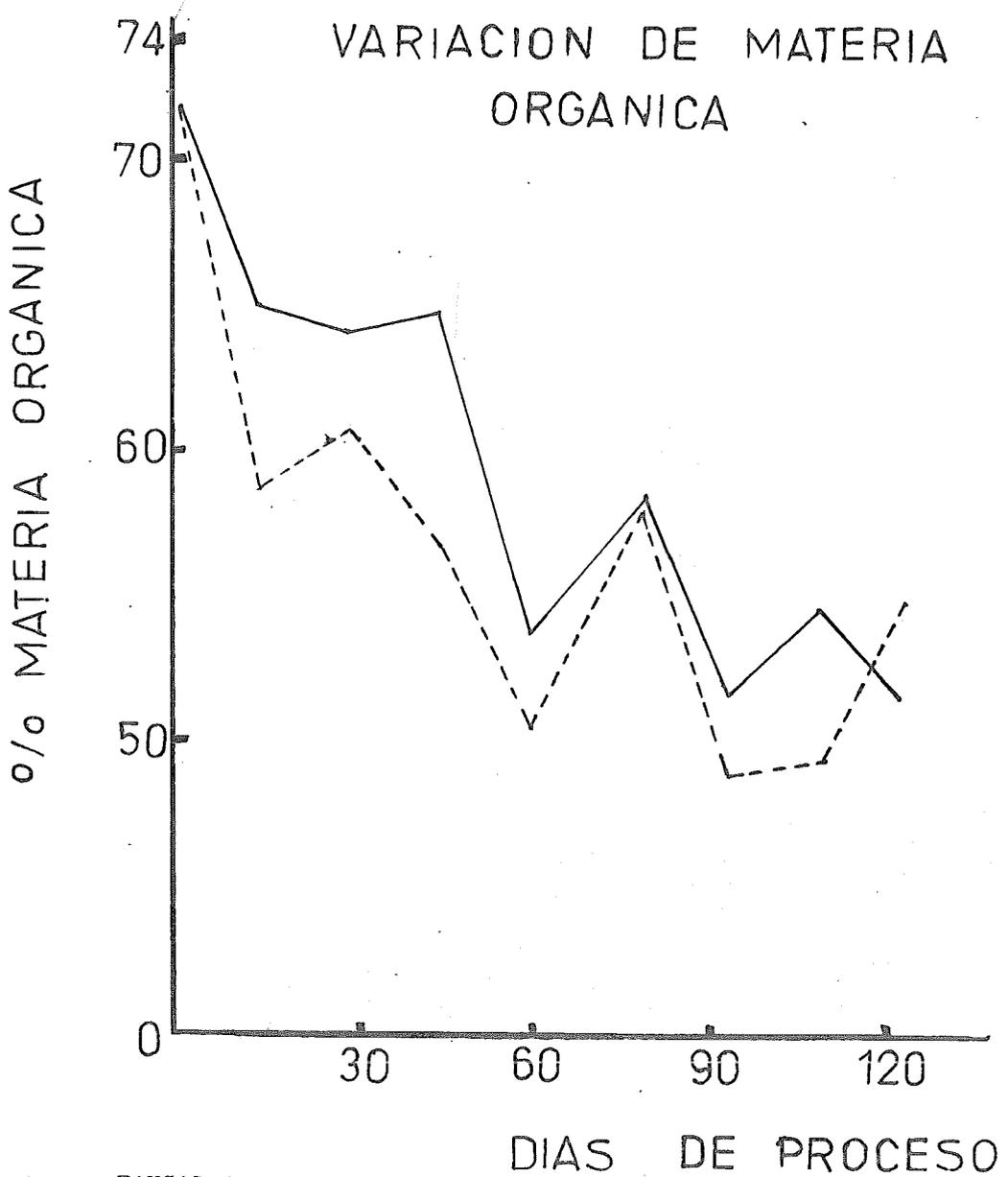
BANCAL B - - -

GRAFICA No. 5

VARIACION DE HUMEDAD



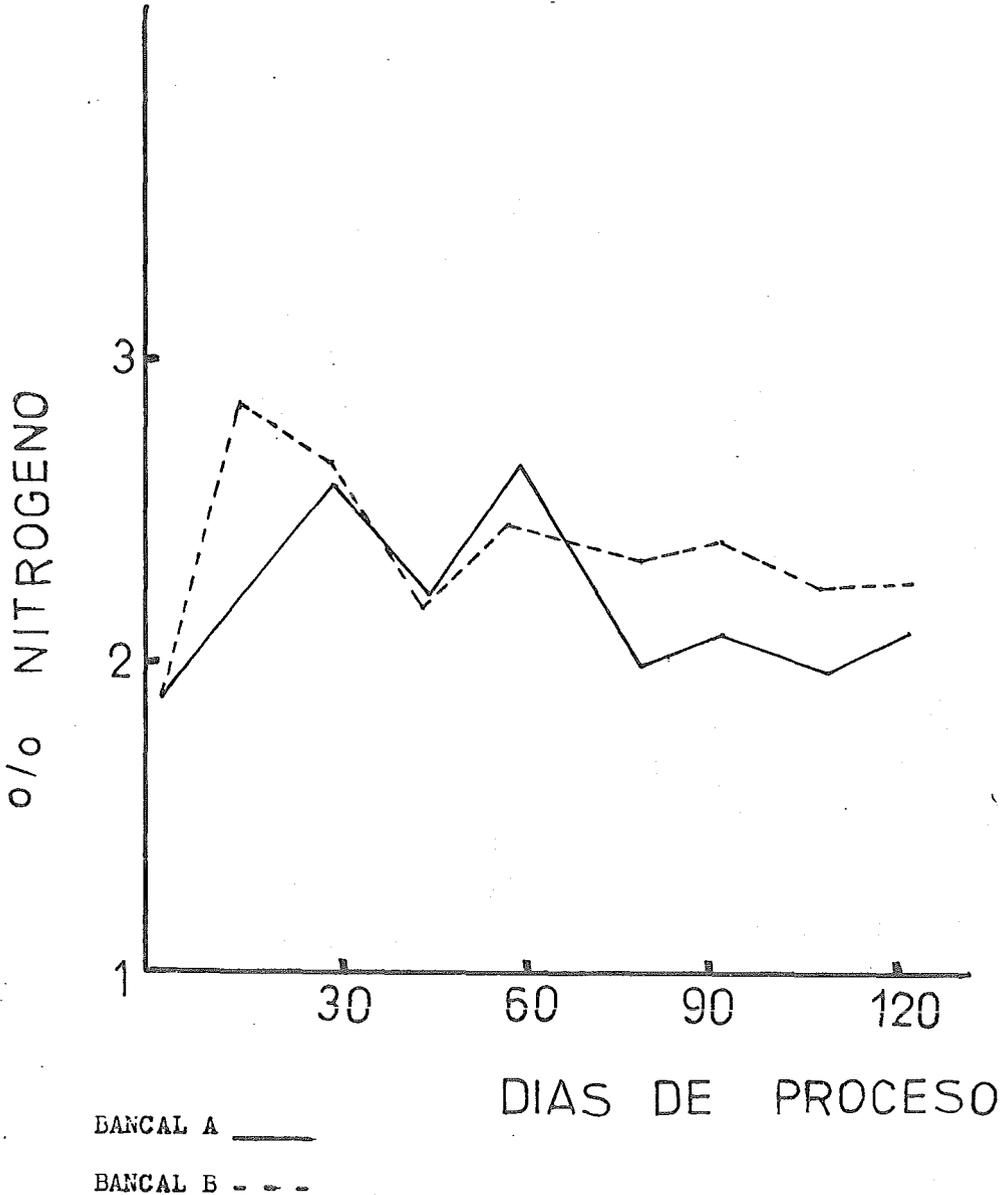
GRAFICA No. 6
VARIACION DE MATERIA
ORGANICA



BANCAL A ———

BANCAL B - - - -

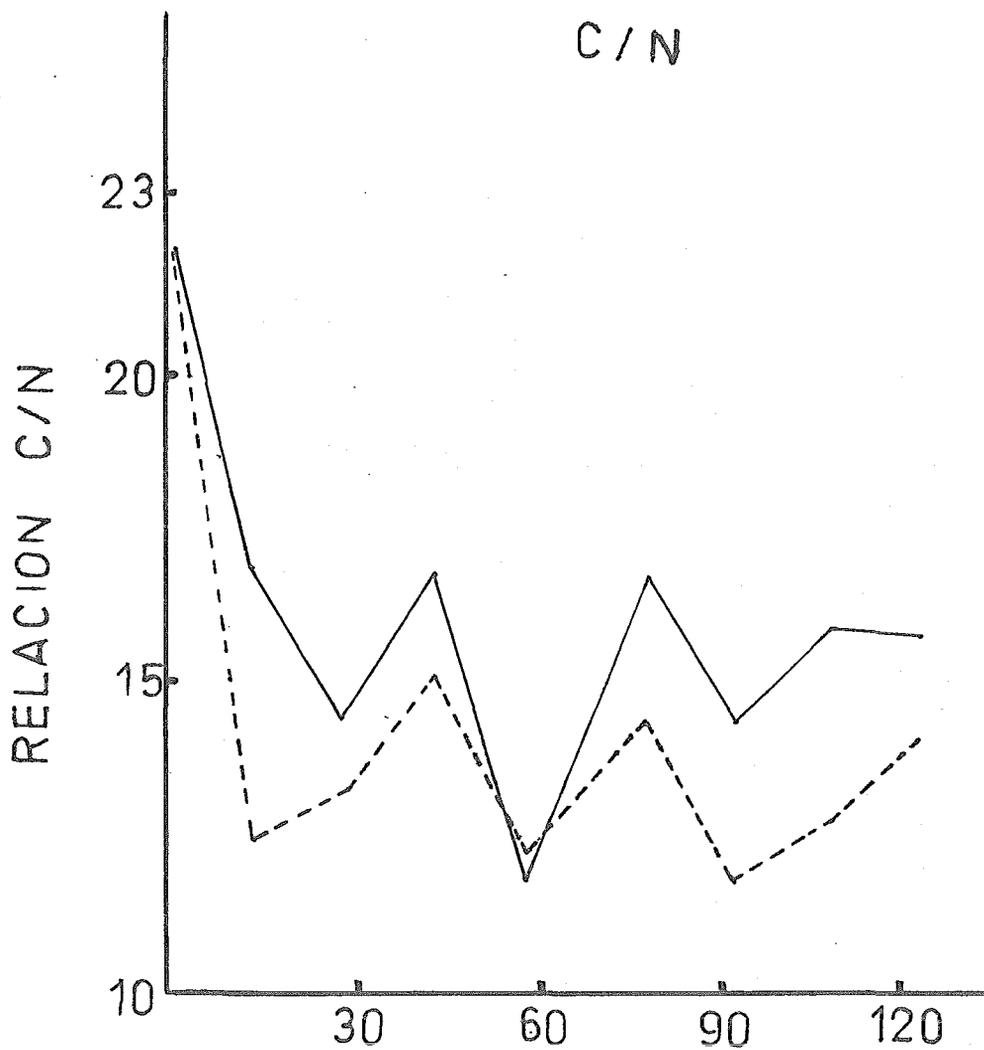
GRAFICA No. 7
VARIACION DE NITROGENO TOTAL



GRAFICA No.8

VARIACION DE LA RELACION

C/N



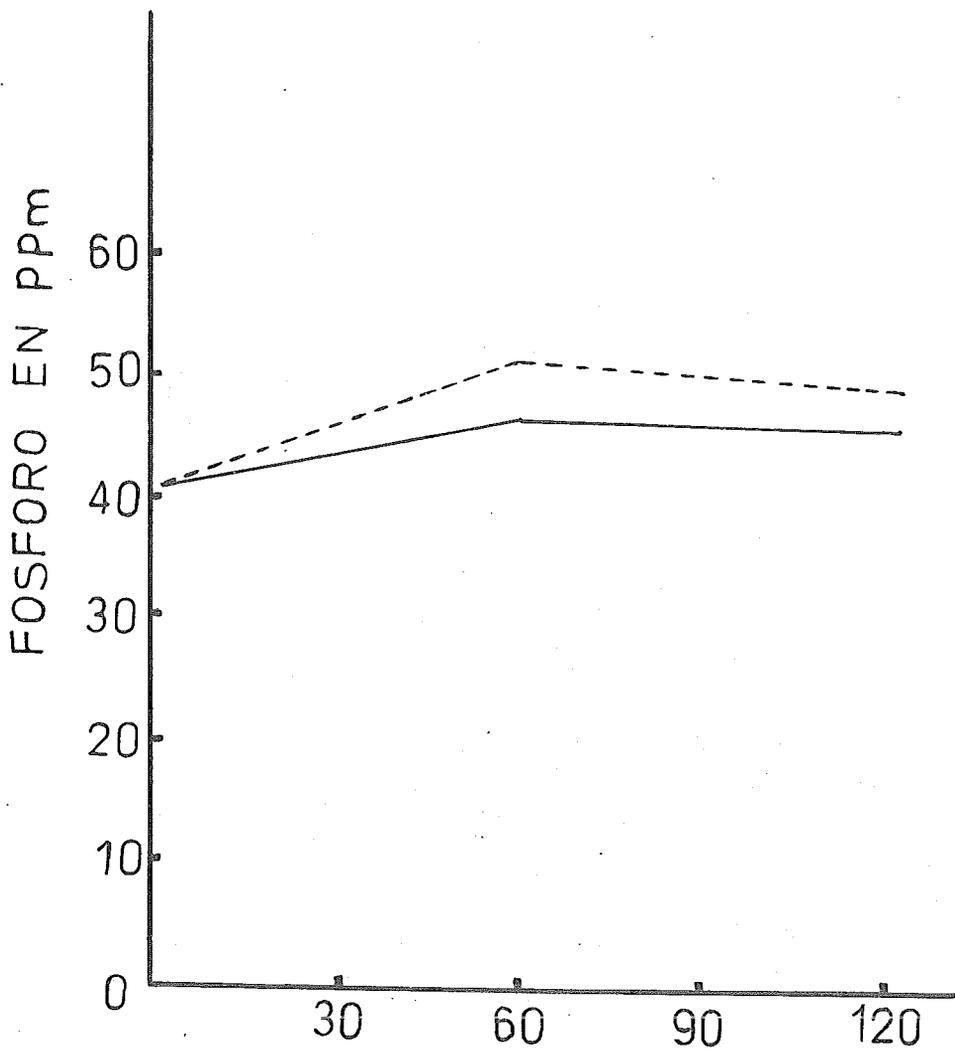
BANCAL A ———

BANCAL B - - -

DIAS DE PROCESO

GRAFICA No. 9

FOSFORO INTERCAMBIABLE

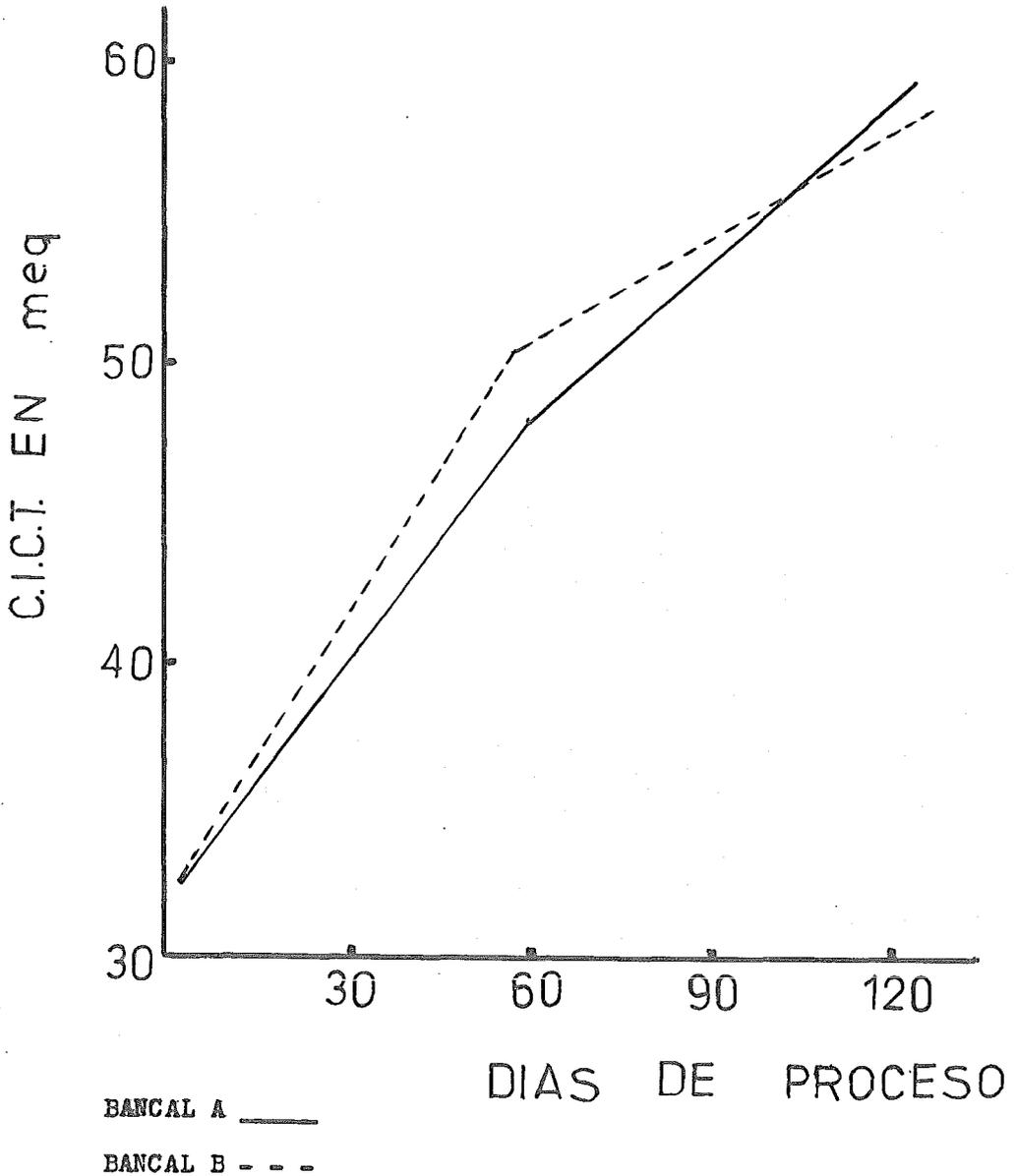


BANCAL A _____

BANCAL B - - -

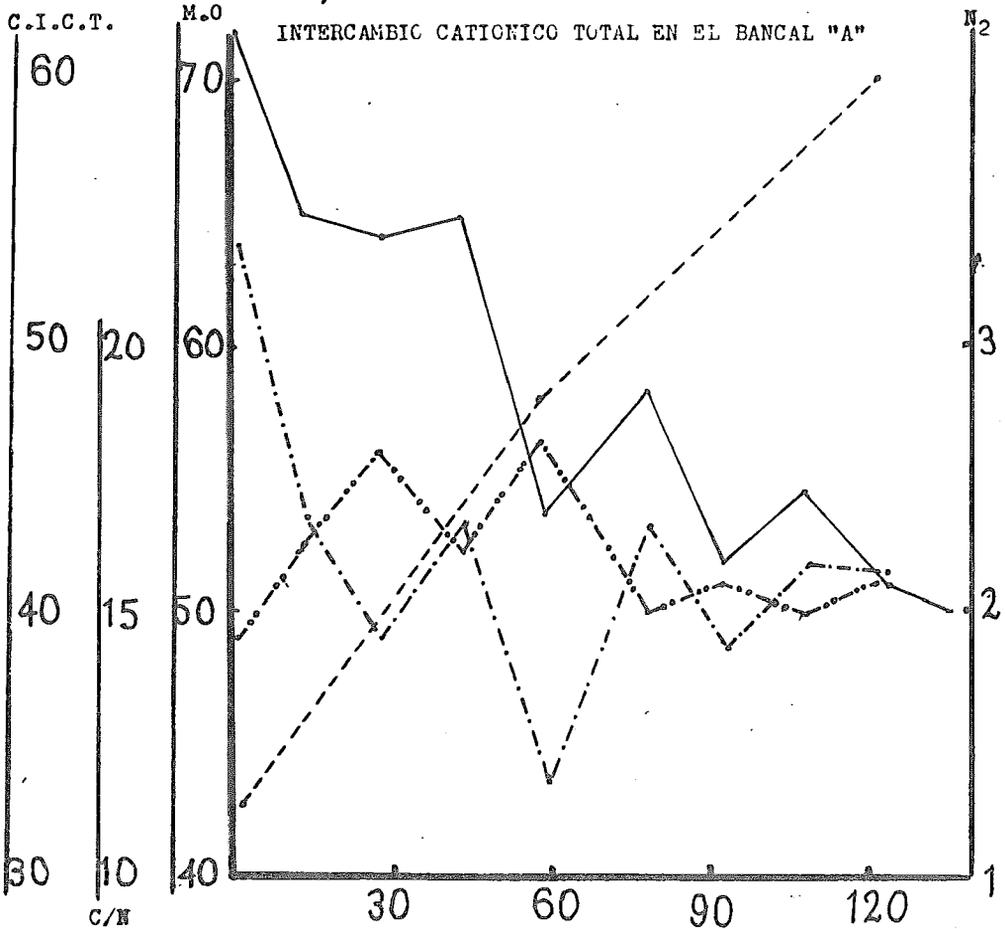
DIAS DE PROCESO

GRAFICA No.10
VARIACION DE LA C.I.C.T.



GRAFICA No.11

VARIACION EN EL % DE MATERIA ORGANICA, % DE NITROGENO TOTAL, RELACION CARBONO NITROGENO Y CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO TOTAL EN EL BANCAL "A"



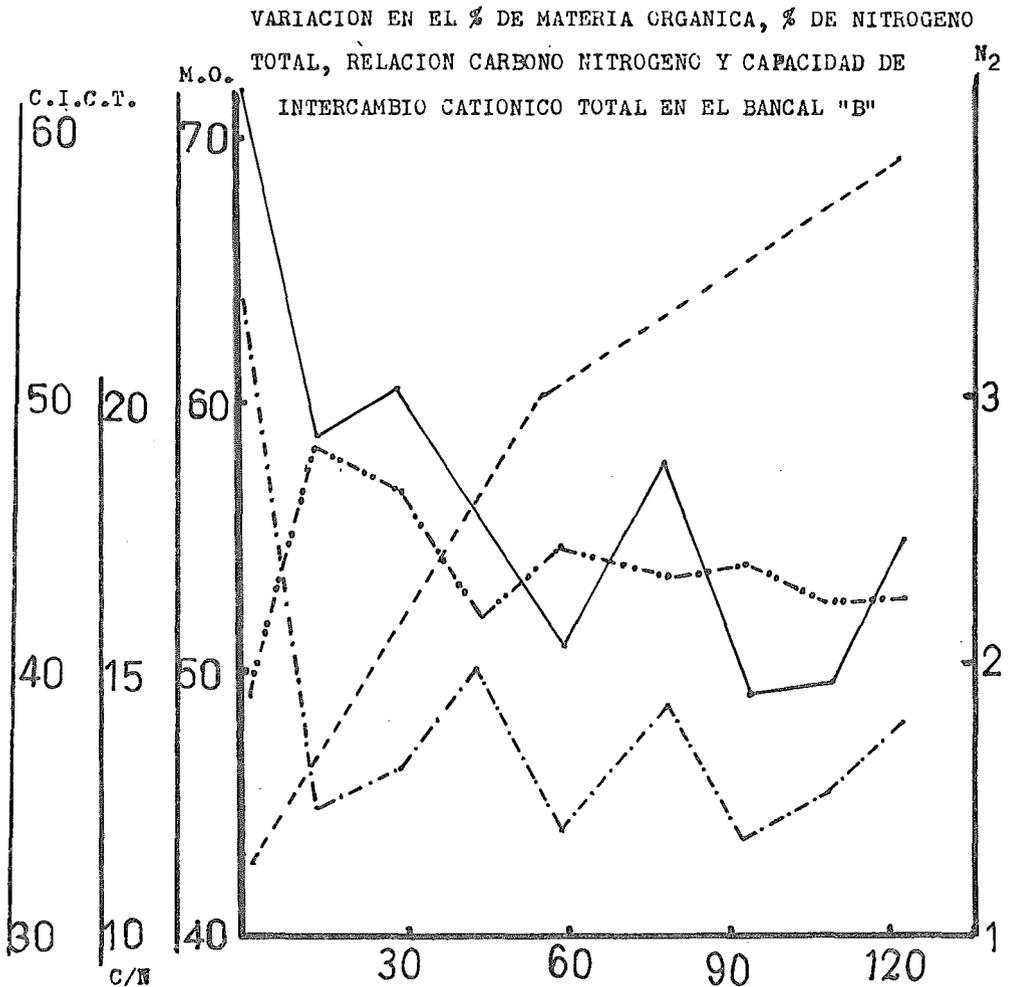
M.O.= % de Materia Orgánica — DIAS DE PROCESO

N₂ = % de Nitrógeno Total

C/N= Relación Carbono Nitrógeno

C.I.C.T. = Capacidad de Intercambio Cationico Total - - -

GRAFICA No.12



M.O. = % de materia orgánica — DIAS DE PROCESO

N₂ = % de Nitrógeno Total

C/N = Relación Carbono Nitrógeno

C.I.C.T. = Capacidad de Intercambio Catiónico Total - - -

5 DISCUSION DE RESULTADOS.

5 DISCUSION DE LOS RESULTADOS

En este capítulo se discuten los niveles de población de los microorganismos celulolíticos y actinomicetos, así como los cambios que se encontraron en los parámetros físicos y químicos que se midieron.

MICROORGANISMOS CELULOTITICOS

Proceso normal (Bancal A). Tabla No.1 y Gráfica -
No. 1

En la muestra cero, se encontró una población de microorganismos celulolíticos de 0.044 millones por gramo de muestra seca, dentro de este nivel se mantuvieron hasta los 29 días del proceso, pero después de este período, el nivel de la población de estos microorganismos comenzó su ascenso, que no fue muy grande, alcanzando un valor de 0.125 millones por gramo de muestra seca que corresponde a los 59 días del proceso, posteriormente, con respecto a este valor hay una disminución de los microorganismos celulolíticos que se mantiene casi constante en número hasta los 109 días del proceso. Pero a los 123 días, se observó nuevamente un aumento, se encontraron 0.61 millones de microorganismos celulolíticos por gramo de muestra seca.

ACTINOMICETOS

Proceso normal (Bancal A). Tabla No. 1 y Gráfica -
No. 2.

En la muestra cero se encontró una población de actinomicetos de 11.93 millones por gramo de muestra seca, -
cuantificados por el método de la placa de agar. A los 14 -
días del proceso no se encontraron actinomicetos, por este -
método. Después se observó un aumento hasta los 44 días don-
de se cuantificaron 34.07 millones de actinomicetos por gra-
mo de muestra seca. Con respecto al dato anterior, posterior
mente hubo una disminución en la población de actinomicetos-
a los 59 días del proceso donde se cuantificaron 2.29 millo-
nes por gramo de muestra seca, sin embargo a pesar de que en
este muestreo se encontro un valor mínimo de actinomicetos,-
es el punto donde empieza un aumento paulatino hasta el últi
mo día del muestreo, a los 123 días del proceso, donde se -
cuantificaron 145 millones de actinomicetos por gramo de -
muestra seca.

MICROORGANISMOS CELULOLITICOS

Proceso modificado (Bancal B). Tabla No. 1 y Grafi
ca No. 1

La población de microorganismos celulóliticos, en este proceso, se --
observó como en el bancal normal hasta los 29 días de iniciado; después,-
con respecto a los niveles observados inicialmente, hubo un aumento hasta
los 59 días donde se cuantificaron 0.907 millones de microorganismos celu-
lóliticos por gramo de muestra seca, y a partir de ese día se aprecia

ron disminuciones y aumentos sucesivos hasta los 123 días, - donde se cuantificaron 0.734 millones por gramo de muestra - seca.

Como podemos observar; en los dos procesos los niveles de población celulolítica, en los primeros 29 días se presentaron muy parecidos en ambos bancales A y B (gráfica -- No. 1) Sólo que a partir de los 44 días, en el proceso modificado se efectuó un cambio en el nivel de población de los -- microorganismos celulolíticos, elevándose más dicha población en el bancale B en relación al bancale A.

ACTINOMICETOS

Proceso modificado (Bancale B) Tabla No. 1 y gráfica No. 2

La población de actinomicetos, en este proceso, se observó igual que en el bancale normal hasta los 14 días. -- Después a los 29, 44 y 59 días del proceso se cuantificaron respectivamente; 3.37, 5.31 y 4.04 millones de actinomicetos por gramo de muestra seca, se puede decir que durante este período la población de actinomicetos se mantuvo casi constante. En relación a los valores antes citados, hay una disminución en la población actinomicetos ya que se encontraron - 1.7 millones por gramo de muestra seca a los 79 días de proceso y a partir de este día se vio un aumento discreto y después explosivo llegando la población de actinomicetos hasta los-

183.52 millones por gramo de muestra a los 123 días de proceso.

Las poblaciones de actinomicetos, en el bancal A, presento más variaciones que en el bancal B. En la gráfica 2, se puede observar que en el bancal A dicha población se empieza a establecer a partir de los 59 días de proceso y en cambio en el bancal B esto se observo hasta los 79 días de proceso.

ANTAGONISMO. tabla No. 2

El estudio del efecto antagónico estuvo limitado al estudio de Actinomicetos, frente a cepas de bacterias patógenas para el hombre, ya que los actinomicetos tienen la capacidad de contribuir en el equilibrio dinámico de las poblaciones microbianas, y pudimos comprobar que en las compostas examinadas en el presente trabajo, existe también este tipo de relación entre los microorganismos, específicamente las bacterias.

TEMPERATURA. Tabla No. 3 y Gráfica No. 3

La temperatura antes de iniciar el proceso de composteo de los desperdicios fue de 25 °C. Al agregar agua a los bancales y después de 24 horas: el bancal A mostró una temperatura de 45°C y el bancal B una de 50°C; la temperatura en ambos bancales fue disminuyendo progresivamente hasta llegar a 21°C, la cual se mantuvo constante a partir de los 93 días de proceso. Esta disminución fue más acentuada en el bancal A, pues el bancal B mostró temperaturas de más de 25°C hasta los 79 días de proceso, en cambio en el bancal A esto sucedió sólo hasta los 59 días de composteo. Cuando se realizaban los volteos, la temperatura de los bancales ascendía en unos 4°C respecto a la anteriormente mostrada, durante dos días de proceso, volviendo posteriormente a su nivel anterior.

pH. Tabla No. 3 y Gráfica No. 4

El pH al iniciarse el proceso de composteo de los desperdicios fue neutro, en adelante el pH tendió a la alcalinidad en ambos bancales A y B; sin embargo el bancal A fue más alcalino que el bancal B a partir de los 59 días de proceso. La alcalinidad se debió posiblemente a la formación de diversos compuestos entre ellos el ión amonio, producto final de la descomposición de las proteínas.

HUMEDAD. Tabla No. 3 y gráfica No. 5

La humedad en ambos bancales durante el período de composteo, se mantuvo entre los siguientes límites: bancal A, de 65 a 74%; bancal B, de 56 a 76%. Estas variaciones en la humedad se debe a que los riegos primero fueron controlados y posteriormente por ser la época de lluvias, la cantidad de agua no pudo ser regulada.

% DE MATERIA ORGANICA. Tabla No. 4 y Gráfica No. 6

Podemos observar que la materia orgánica en ambos bancales (A y B) disminuyó y se acentuó más ésta a los 59 días de proceso.

Con respecto al bancal A; la disminución en el contenido de materia orgánica del bancal B, fue más pronunciada. En la gráfica No. 6 se observan algunos puntos ascendentes que probablemente se deban a la adición de materia celular procedente de la flora y fauna existente en los desperdicios.

% DE NITROGENO TOTAL. Tabla No. 4 y Gráfica No. 7

El porcentaje de nitrógeno aumentó desde el inicio del proceso hasta los veintinueve días en los bancales A y B. En relación al bancal A, en el bancal B el incremento del --

por ciento de nitrógeno fue mayor.

RELACION C/N. Tabla No. 4 y Gráfica No. 8

En el transcurso de la descomposición de la materia orgánica la relación C/N correspondiente a la composta va cambiando progresivamente. Conforme la descomposición avanza se desprende CO_2 mientras que el material nitrogenado tiende a acumularse en los mismos organismos causantes de la descomposición, por lo cual la relación C/N también va reduciendo progresivamente.

La relación C/N en el punto inicial del proceso de composteo fue de 22/1; después en ambos bancales en el punto en que se tomó la última muestra fue aproximadamente de 14/1, esto indica una mineralización de la materia orgánica al mismo tiempo que un aumento proporcional de nitrógeno en el material procesado.

IONES METALICOS INTERCAMBIABLES: K^+ , Ca^{++} , Mg^{++}

TABLA No. 5

El potasio intercambiable en ambos bancales A y B fue en forma ascendente a lo largo del proceso, pero en el bancal B la cantidad de potasio intercambiable aumento más, -

posiblemente debido a la adición de los nutrimentos.

Calcio intercambiable: En el bancal A, de un nivel inicial observado hay una disminución a los 59 días y a los 123 días se observó un aumento con respecto al valor antes citado pero esta cantidad es menor a la encontrada -- inicialmente. En el bancal B se obtuvieron los mismos valores que en el bancal A, hasta los 59 días, después mostró el mismo valor a los 123 días que el bancal A.

Las disminuciones encontradas posiblemente se deban a que el calcio es asimilado por los microorganismos -- existentes y con ello el calcio pierde su forma intercambiable.

Magnesio intercambiable: en el bancal A, los niveles observados inicialmente y al tomar el último muestreo son iguales, mostrando una disminución a los 59 días. En el bancal B, también se observó una disminución del magnesio intercambiable a los 59 días, pero fue más leve, a los 123 días se encontró un valor de magnesio intercambiable un poco superior al contenido inicialmente.

CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO TOTAL

Tabla No. 5 y Gráfica No. 5

En ambos bancales A y B la capacidad de intercambio catiónico total fue ascendiendo progresivamente durante todo el proceso. En el bancal modificado (B) a los 59 días se observó una cantidad mayor en la C.I.C.T. que en el bancal A y a los 123 días ésta fue menor en el bancal modificado.

Se observó que según va aumentando el grado de la descomposición de la materia orgánica, la C.I.C.T. también aumenta suponiéndose que esto es por el aumento de las micelas coloidales.

6 CONCLUSIONES

6 CONCLUSIONES

La composta es un sistema muy complejo, lo que dificulta la interpretación de los datos que se obtienen a través de diversos análisis, sin embargo vamos a tratar de establecer cuales fueron las posibles causas a que se debieron - las variaciones en los niveles de las poblaciones microbianas y de algunos parámetros fisicoquímicos observados en este trabajo.

En primer término discutiremos, las posibles causas por las cuales los niveles de microorganismos celulolíticos se encontraron afectados, ya que al principio en los dos bancales A y B, la población fue baja y probablemente se debió a que al inicio de ambos procesos hubo competencias entre otras poblaciones microbianas y los microorganismos celulolíticos, por el aprovechamiento de los nutrimentos fácilmente asimilables, además posiblemente este nivel de población bajo pudo deberse también a que los microorganismos celulolíticos se encontraban en condiciones desfavorables al iniciarse el proceso de la descomposición de la materia orgánica. A los 123 días de fermentación de los desechos en los bancales A y B el aumento de la población celulolítica es si

milar, esto se debió tal vez a que en ese período la descomposición de las compostas es muy semejante.

Por lo que se refiere a la población de actinomicetos, en los dos bancales al iniciarse la fermentación, la población también se observó baja, probablemente debido al pH del medio, ya que estos microorganismos se desarrollan mejor a un pH alcalino y al principio, el pH de la composta fue neutro.

Se observó que los niveles de actinomicetos ascienden casi al mismo tiempo tanto en el bancal A como en el B, cuando la descomposición de la materia orgánica es más avanzada y el pH es alcalino.

La temperatura de los bancales A y B fue baja, comparada con la de otros trabajos realizados sobre el mismo tema, debido al tamaño de éstos ya que fueron pequeños, las pérdidas de calor fueron mayores y también la baja temperatura puede deberse a los riegos continuos.

En relación al contenido de materia orgánica del bancal A con respecto al B, se observó una disminución de la materia orgánica más acentuada en el bancal B con lo que podemos concluir que al menos en este caso, se aceleró la descomposición de los desechos tratados en dicho bancal. Tam--

bién aumento la población de celulolíticos.

El contenido de nitrógeno total, en los dos bancales A y B gráfica No. 7 se observó un aumento y creemos que se debió a una posible fijación de nitrógeno atmosférico por microorganismos, además de las adiciones de sulfato de amonio que se hicieron al bancal B. También se observaron algunos puntos descendentes en la gráfica, debido probablemente a -- pérdidas originadas por distintas causas: volatilización en forma de gas (N_2) o de amonio en el momento de los volteos o por lixiviación durante los riegos.

En relación al uso de sustancias químicas como nutrientes observamos que si hubo diferencias entre los dos - bancales. Un aumento en la población celulolítica en el ban cal B (gráfica 1). De acuerdo a lo anterior creemos que es necesario continuar con este tipo de trabajo para conocer me jor estos efectos lo que permitiría encontrar fórmulas de nu trimentos químicos que podrían mejorar el proceso y la calidad del producto final o composta.

7 BIBLIOGRAFIA

7 BIBLIOGRAFIA

1. Alexander M. "Introduction to Soil Microbiology"
Ed. Wiley. 1961 New York.
2. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.
Ed. The Williams & Wilkins Compañy. 1974 U.S.A.
3. Burges A. y Raw F. "Bilografía del Suelo"
Ed. Omega. 1971 Barcelona.
4. Carrillo García Rebeca. Tesis Profesional 1977
Facultad de Química U.N.A.M. México.
5. Curry K. Lindahl. "Conservar para vivir"
Ed. Diana. 1974 México
6. Dubos R. J. 1928 "The descomposition of cellulose by aerobic bacteria. J. Bact. 15: 223 - 234
7. Echegaray A. A. 1975 Practicas de Microbiología Agrícola.
Facultad de Química U.N.A.M. México.
8. Erikson, D. 1949 The morphology cytology and taxonomy of the actinomicetes. Ann. rev. Microb. Vol. 33:23
9. Evans D. D. "Methodos of Soil Analysis"
Part 2 - Numero 9 in the series . Agronomy.
American Society of Agronomy Inc. Publisher. 1965.
Medison, Wisconsin U.S.A.
10. Fruton J. S y Simmonds S. "General Biochemistry"
Ed. Wiley. 1958 New York.

11. Garassini L. Marzo 1962 "El suelo y su Microflora"
Revista de la Facultad de Agronomía. Universidad Cen---
tral de Venezuela Alcance No. 4
12. Girard H. y Rougieux R. "Técnicas de Microbiología --
Agrícola"
Ed. Acribia. 1964 Zaragoza (España).
13. González Amaya Fernando. Tesis Profesional 1978
Facultad de Química U.N.A.M. México.
14. Hattori T. "Microbial life in the Soil"
Marcel Dekker Inc. 1973 New York
15. Hopkins P. Donald. "Chemicals Humus and The Soil Chemi---
cals"
Publishing Co Inc. 1957 New York.
16. Jackson M. L. "Análisis Químico de Suelos"
Ed. Omega 1970 Barcelona.
17. Kononova M. M. "Soil Organic Matter"
Ed. Permagon Press 1961 New York.
18. Roldan Mendoza Antonio. Tesis Profesional 1979
Facultad de Química U.N.A.M. México.
19. Sanchez Marroquin A. "Microbiología Agrícola e Indus---
trial"
1954 México.
20. Sykes G. "Actinomycetales Characteristics and Practical
Importance". Ed. Academic Press 1973 London New York.

21. Waksman S.A. "Soil Microbiology"
Ed. Wiley. 1957 London New York.

22. Nieto Villalobos Zila. 1979. Comunicación verbal.
- División de Estudios Superiores de Alimentos, Facultad-
de Química U.N.A.M. México.

23. P. R. Hesse "A Text Book of Soil Chemical Analisis"
Ed. Chemical Publishing Inc. 1972 New York.