

Comparación de la flora microbiana a partir de dos metodologías para el tratamiento de residuos sólidos domiciliarios en Garagoa, Boyacá

Comparing microbacterial flora by using two methodologies for treating household solid waste in Garagoa, Boyacá

Astrid Johanna Castro Merchán¹, Gonzalo Mauricio Matallana Rodríguez²,
Sonia Echeverry Hernández³

Resumen

El objetivo de esta investigación consistió en comparar la flora microbiana a partir de la metodología convencional implementada en Garagoa, Boyacá, para el tratamiento de residuos sólidos domiciliarios con una metodología experimental que consistió en humectar los residuos con agua en lugar de lixiviado, y no mezclar el material por tratar con otro de distintos tiempos de compostaje; para tal fin, se caracterizaron y determinaron los tamaños poblacionales de heterótrofas totales, pseudomonas, hongos y actinomicetos a partir de muestras tomadas en distintas etapas del proceso. De las distintas muestras analizadas se identificaron hongos de los géneros *Cladosporium* y *Aspergillus*, propios del proceso de compostaje, *Fusarium*, *Scopulariopsis*, *Moniliella*, *Curvularia* y levaduras del género *Rhodotorula*.

En el agar ISP2 (para el aislamiento de actinomicetos) se identificaron diversos morfotipos: bacilos esporulados, bacilos gramnegativos, cocobacilos, cocos grampositivos y una bacteria del género *Streptomyces*.

De acuerdo con los resultados de los tamaños poblacionales de los grupos de microorganismos estudiados no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados; sin embargo, el mayor promedio de los recuentos se presentó en el tratamiento experimental.

Palabras clave: materia orgánica, bacterias, hongos, actinomicetos, compost.

-
- 1 Bióloga, investigadora Grupo de Estudios Pedagógicos en Microbiología Ambiental, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. astridca844@hotmail.com
 - 2 Biólogo, Grupo de Estudios Pedagógicos en Microbiología Ambiental, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. mauri2481@hotmail.com
 - 3 M. Sc. Microbiología, coordinadora Grupo de Estudios Pedagógicos en Microbiología Ambiental, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. soniaecheverryuptc@gmail.com

Abstract

This research was aimed at comparing microorganisms from conventional household solid waste treatment in Garagoa, Boyacá, using an experimental methodology consisting of moistening waste with water instead of lixivate and not mixing the material to be treated with other material having different composting times (i.e. organic fertilizer). Complete heterotopous, pseudomona, fungi and actinomycete population size were thus characterised from samples taken from different stages of the process. Fungi from the *Cladosporium* and *Aspergillus* genera (from composting) were identified from this analysis, as well as *Fusarium*, *Scopulariopsis*, *Moniliella*, *Curvularia* and yeasts from the *Rhodotorula* genera. Some morphotypes were identified in the ISP2 agar (for the actinomycete isolate): sporulated bacilli, gram-negative bacilli, cocobacilli, gram-positive cocci and one bacterium from the *Streptomyces* genus. According to the results regarding the population sizes of the microorganism groups studied, no meaningful differences were presented between the treatments being tested; however, the experimental treatment presented the highest average count.

Key words: organic material, bacteria, fungi, actinomycete, organic fertilizer.

Recibido: febrero 11 de 2009

Aprobado: noviembre 23 de 2009

Introducción

La fabricación de compost a partir de basura orgánica parece ofrecer una alternativa atractiva a los vertederos para la descomposición de residuos sólidos domésticos y agrícolas. Comparado con otros métodos de eliminación alternativos, la fabricación de compost tiene ventajas ambientales considerables (Atlas, 2002).

En el municipio de Garagoa, Boyacá, se encuentra ubicada una planta de tratamiento de residuos sólidos domiciliarios, a la cual llegan cerca de 25 toneladas diarias de este material proveniente de 12 municipios de la Provincia de Neira; estos residuos son seleccionados y picados previamente en la planta, y luego son tratados en celdas de compostaje durante tres meses y medio.

Cada una de las 40 celdas de compostaje, cuya capacidad es de 7 toneladas / celda, se llena con los residuos sólidos y se mezcla con otros ya tratados que provienen de pilas de compostaje con distinto tiempo de tratamiento. El aire es inyectado mediante ventiladores (uno por cada cuatro pilas) para que circulen los gases y se agilice el proceso; la humectación de las pilas se realiza por aspersión del lixiviado, reco-

gido de las pilas con motobomba y almacenado en un tanque subterráneo. De cada tonelada de residuos picados en la planta se obtiene de 300 a 350 kilogramos de compost.

La optimización de los procesos de compostaje con fines de certificación del producto final (compost), ha conducido a las plantas de tratamiento de residuos sólidos a desarrollar metodologías seguras y sencillas para alcanzar dicho fin. Es así como el uso de técnicas de laboratorio convencionales ha permitido caracterizar en el proceso de compostaje más de 70 especies de microorganismos, entre los que se destacan los grupos de actinomicetos termófilos, bacterias mesófilas y termófilas, hongos mesófilos y termófilos, que degradan compuestos como hemicelulosa, celulosa, proteínas y carbohidratos, materiales orgánicos encontrados en todo proceso de compostaje (Tchobanoglous *et al.*, 1994).

La población de bacterias constituye el grupo de organismos más pequeños y más numerosos, además de ser las primeras en comenzar la descomposición de la materia orgánica. Los hongos se encuentran en menor número en relación con las bacterias y los actinomicetos, pero con mayor masa. Los actinomicetos

son especialmente importantes en la formación del humus, y funcionan como antagonistas de muchas bacterias y hongos patógenos de las plantas, debido a que producen antibióticos (efectos biostáticos y biocidas); éstos benefician el crecimiento y la actividad de algunos fijadores de nitrógeno como *Azotobacter* y de las micorrizas (Bejarano, 2005).

Actualmente, las técnicas de biología molecular son empleadas para clasificar e identificar microorganismos de diferentes comunidades, mediante el uso de sondas para la detección de la subunidad ribosomal 16S del ARN, y sin requerir del cultivo. Los métodos se basan en la extracción total de ADN o ARN de representantes de toda la comunidad, y a continuación, mediante las sondas específicas de ácidos nucleicos, se obtienen clones de ARN ribosómico. Estos clones se consiguen por la amplificación de los genes ARN ribosómicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o, de manera indirecta, por la producción de ADN complementario (cADN) del ARN ribosómico, que se lleva a cabo por la transcriptasa reversa. Hasta el momento, según indica Muyzer (1999), la manera más exitosa de estudiar la diversidad microbiana ha sido la clonación de los fragmentos amplificados del 16s rADN para luego determinar las especies presentes en una comunidad microbiana. Sin embargo, debido a que la clonación requiere mucho tiempo y es muy laboriosa, no se sugiere estudiar los cambios en una población microbiana por medio de este método. Para este propósito, uno de los principales objetivos de la microbiología ecológica es utilizar técnicas como *fingerprinting*, las cuales entregan un patrón o un perfil de la diversidad de la comunidad basada en la separación física de los ácidos nucleicos propios de las especies presentes. Estos métodos son rápidos y relativamente fáciles de llevar a cabo, pero lo más importante es que permiten comparar la diversidad genética de las comunidades microbianas en hábitats muy disímiles.

Por tal motivo, en esta investigación se comparó la flora microbiana a partir de la metodología convencional y experimental para el

tratamiento de los residuos sólidos domiciliarios, dentro del Sistema de manejo integral regional del municipio de Garagoa, Boyacá, en donde se determinaron los tamaños poblacionales y tipos de microorganismos.

Materiales y métodos

Área de estudio. La Planta de Tratamiento de Residuos Sólidos se encuentra ubicada en el kilómetro 5 vía Garagoa-Las Juntas, aproximadamente a 1705 msnm, con una temperatura media de 18 °C; el municipio de Garagoa tiene una extensión total de 193 kilómetros cuadrados; dista 81 km de Tunja, su población es de 16.195 habitantes, y está dividida en 30 veredas.

Muestreo. Se tomó una muestra de la parte media de pilas encontradas en diferentes tiempos de compostaje: 5, 30, 60 y 105 días. Éstas eran sometidas a un tratamiento convencional; en cada una de ellas se registró la temperatura mediante el uso de un termómetro de campo. Estas muestras fueron depositadas en bolsas plásticas tipo zi-ploc y se mantuvieron en refrigeración (4 °C) hasta su procesamiento en el laboratorio.

Tratamiento experimental. Éste, consistió en cargar una pila con residuos sólidos frescos, sin mezclarlos con material ya tratado, mediante humectación con agua; se hizo volteo manual una vez por semana; esta pila se mantuvo por dos meses y se realizó el muestreo al mes y a los dos meses de compostaje.

Fase de laboratorio

Cultivo de microorganismos. Se pesaron 10 g de cada una de las muestras y se diluyeron en forma seriada desde 10^{-1} hasta 10^{-6} en agua peptonada estéril; 0,1 ml de cada una de las diluciones de las muestras se inoculó por duplicado mediante extensión en la superficie en los siguientes medios de cultivo: agar peptona caseína (APC) para el recuento de heterótrofas totales, agar cetrimide para el recuento de pseudomonas, agar gentamicina-glucosa-

extracto de levadura (GGY) para el recuento de hongos (mohos y levaduras), y agar ISP2 para el recuento de actinomicetos (Raver, 2000). Las muestras inoculadas en APC y cetrimide fueron incubadas a 37 °C durante 48 horas, y las de agar GGY e ISP2 se incubaron a 28 °C durante 8 días. Los recuentos se realizaron de acuerdo con la norma técnica (para placas entre 30 y 300 UFC/g de muestra), promediando los resultados para cada dilución.

La descripción macroscópica de los hongos se realizó teniendo en cuenta el aspecto de la colonia y la pigmentación, y para la descripción microscópica realizada mediante tinción con azul de lactofenol se tuvo en cuenta el tipo y la pigmentación de las hifas y la disposición y pigmentación de las conidas.

La descripción macroscópica de los microorganismos crecidos en APC, en agar cetrimide y en agar ISP2 se realizó teniendo en cuenta el aspecto y la pigmentación de la colonia, y para la descripción microscópica realizada mediante tinción de Gram se tuvo en cuenta el color, la forma, la agrupación y la disposición de las esporas en el caso de los actinomicetos.

Caracterización bioquímica. Se realizó con el sistema api 20 NE (bioMérieux S.A) empleando colonias de cultivos frescos de APC y cetrimide (de no más de 24 horas de crecimiento).

Análisis estadístico. Se realizó una prueba t de Student por medio del programa estadístico Statgraphics plus versión 5.1 para comparar los promedios de los recuentos poblacionales de los microorganismos estudiados entre los tratamientos convencional y experimental durante un periodo de tiempo comprendido entre 30 y 60 días de compostaje.

Resultados y discusión

Tamaños poblacionales de los microorganismos estudiados durante el tratamiento convencional de los residuos sólidos. En la figura 1 se muestra el desarrollo de los cuatro grupos

funcionales de microorganismos en función del tiempo de compostaje: los heterótrofos totales presentaron mayor desarrollo en la fase inicial del proceso, es decir, durante los cinco primeros días, resultado que corresponde con el hecho de que las bacterias son los primeros microorganismos en comenzar el proceso de compostaje gracias a la amplia gama de enzimas capaces de romper químicamente una gran variedad de compuestos orgánicos (García, 2000).

De acuerdo con la temperatura registrada en la fase de cinco días (44,9 °C), estos microorganismos mesófilos aerobios son los responsables de la primera fase del proceso de compostaje, conocida como fase de latencia.

La población de pseudomonas y hongos (mohos y levaduras) presentó mayor desarrollo en la fase final del proceso (a los 105 días); en esta etapa, se registró una temperatura de 54,8 °C la cual favorece el desarrollo de hongos termófilos responsables de la fase de maduración del compost (Atlas, 2002). La población de microorganismos cultivada en el agar ISP2 presentó mayor desarrollo en la fase intermedia del proceso (a los 60 días); los datos anteriores indican que la flora fúngica y bacteriana, por lo general, prolifera inicialmente si el nitrógeno es abundante, mientras que el desarrollo de los actinomicetos no es favorecido, sino hasta las etapas finales de la descomposición de la materia orgánica (Martín, 1994). Este resultado evidencia que la elevada velocidad de crecimiento, y la versatilidad bioquímica de algunas bacterias y hongos hacen que se desarrollen en las primeras etapas del proceso de compostaje, mientras que los actinomicetos sólo aparecen cuando ya han sido metabolizados los compuestos más fácilmente degradables y la crisis competitiva ha disminuido.

La maduración del compost obedece al desarrollo de las bacterias termófilas bajo una temperatura de 46,5 °C; los actinomicetos termofílicos son comunes en el suelo, el estiércol, la paja caliente, las acumulaciones de abono, y se presentan aun en suelos que nunca alcanzan temperaturas altas (Martín, 1994).

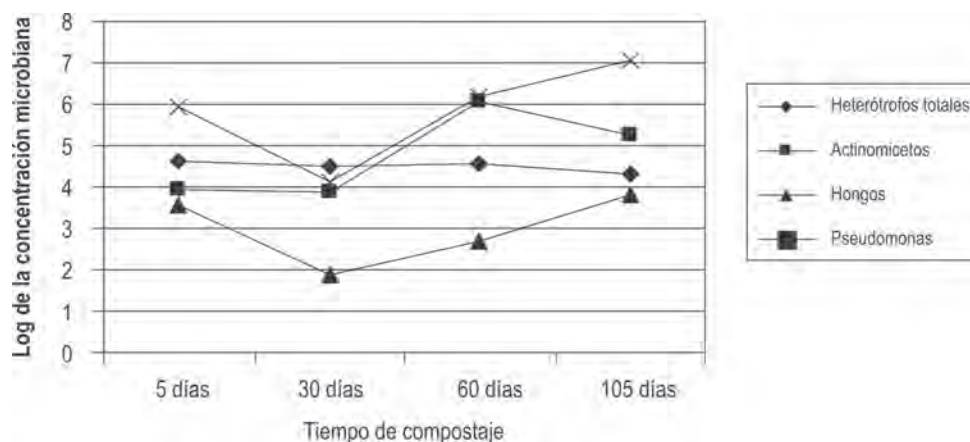


Figura 1. Comparación del desarrollo de los grupos funcionales de microorganismos en distintos tiempos de compostaje (tratamiento convencional).

En la última fase del proceso de compostaje los criterios para la evaluación de compostas terminadas indican que el número de heterótrofos totales ($2,2 \times 10^4$ UFC) fue menor que el establecido para considerar el compost como un buen inoculante del suelo y efectivo en la supresión de enfermedades de plantas (entre 100 a 10000 millones de UFC, es decir, entre 10^8 y 10^{10}) (Norma Técnica Colombiana 1927 del año 2001: Fertilizantes y Acondicionadores del Suelo).

Por el contrario, los recuentos de pseudomonas ($1,23 \times 10^7$ UFC) se encontraron dentro del rango de aceptación de este grupo de microorganismos (entre 10^3 - 10^6 UFC). La población de hongos (mohos y levaduras) corresponde al criterio para la evaluación de compostas terminadas, donde el número de estos organismos debe estar entre mil y diez mil UFC (10^3 - 10^4). En la investigación se halló un valor de $6,8 \times 10^3$ UFC.

Los datos obtenidos para el número de actinomicetos no corresponden al criterio para la evaluación de compostas terminadas, pues el número de estos organismos debe estar entre 1 millón a 100 millones de UFC (10^6 - 10^8). El resultado encontrado en la investigación fue de $1,73 \times 10^5$ UFC, evidenciándose que el valor obtenido se encuentra por debajo de la norma.

El resultado evidenciado se puede explicar por el hecho de que los actinomicetos se encuentran en el horizonte A (parte superficial del suelo) o en profundidades considerables. Para el caso de la presente investigación, las muestras para el análisis de estos microorganismos se tomaron de la parte media de las pilas de compostaje, evidenciando que la densidad celular, calculada por medio de técnicas de placa, disminuye con la profundidad en el perfil del suelo.

En estudios recientes se aislaron y caracterizaron actinomicetos termófilos a partir de muestras de compost, suelos, estiércol y heno, reportándose el hallazgo de cepas como *Streptomyces sp.* con un porcentaje de prevalencia del 50,63% del total de muestras analizadas, *Thermomonospora curvata* con un porcentaje del 15,82%, y *Thermomonospora chromogena* con un porcentaje del 13,92%. Aunque los actinomicetos termófilos predominaron en sustratos "calientes", tales como el compost, resultados que concuerdan con los reportes de otros investigadores (Cross, 1968; Lacey y Dutkiewicz, 1976a; Cross, 1981; McCarthy y Cross, 1981; Goodfellow y Williams, 1983, citados por Ramírez y Cocha, 2003), en muchas muestras de suelos y estiércol no se evidenció el aislamiento de actinomicetos, lo cual pondría de manifiesto que las muestras mencionadas no serían las

adecuadas para el establecimiento de estos microorganismos.

Tamaños poblacionales de los microorganismos estudiados durante el tratamiento experimental de los residuos sólidos. En las figuras 2 y 3, se compara el desarrollo de los cuatro grupos funcionales de microorganismos cuando los residuos sólidos fueron sometidos al tratamiento experimental y convencional durante 30 días.

Como se aprecia en las figuras 2 y 3, los recuentos más altos se presentaron en la población de heterótrofos totales y actinomicetos cuando los residuos sólidos fueron sometidos al tratamiento experimental; mientras que los recuentos más bajos se presentaron en el grupo de las pseudomonas, tanto al mes del proceso de compostaje como a los dos meses del mismo. De igual forma, se observó que el número de microorganismos en los diferentes grupos

funcionales fue mayor durante el tratamiento experimental de los residuos sólidos respecto al tratamiento convencional, a excepción de la población de pseudomonas que presentó menor crecimiento en las pilas sometidas al tratamiento experimental.

Análisis estadístico

Para la comparación entre el tratamiento convencional a los 30 días y el tratamiento convencional a los 60 días de compostaje, se formularon las siguientes hipótesis:

1. Hipótesis nula: los promedios poblacionales del tratamiento convencional a los 30 y 60 días de compostaje son estadísticamente iguales.
2. Hipótesis alterna: los promedios poblacionales del tratamiento convencional a los 30 y 60 días de compostaje son estadísticamente diferentes.

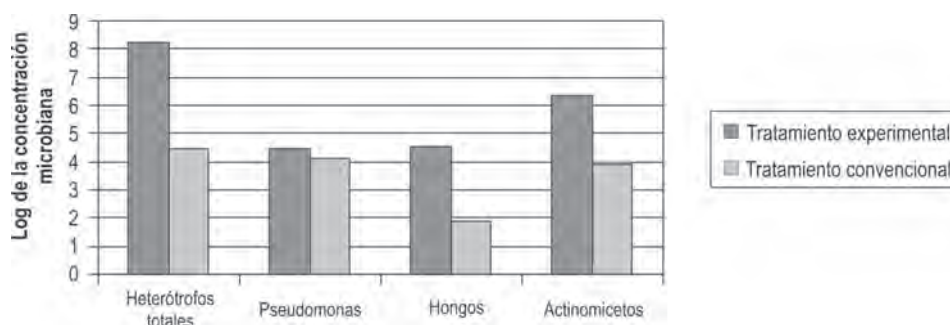


Figura 2. Comparación del desarrollo de los grupos funcionales de microorganismos durante un mes de tratamiento convencional y experimental de los residuos sólidos.

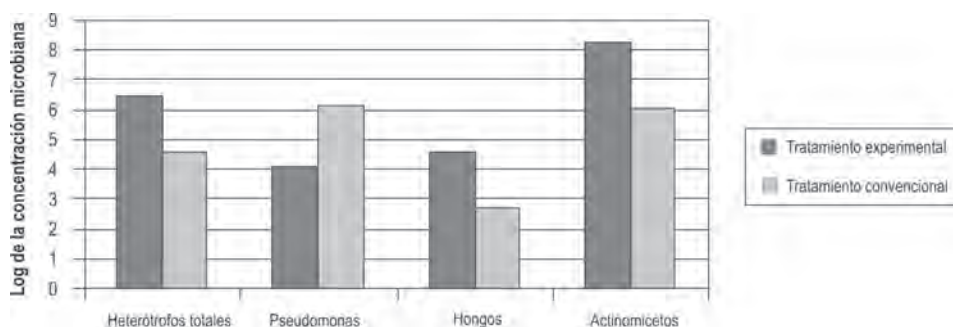


Figura 3. Comparación del desarrollo de los grupos funcionales de microorganismos durante dos meses de tratamiento convencional y experimental de los residuos sólidos.

De acuerdo con los resultados obtenidos mediante la Prueba t, cuyo valor es de -1,28816, con un valor de p equivale a 0,2451, se obtuvo el siguiente análisis estadístico:

Como el valor p práctico es igual a 0,2451, es decir, es mayor a 0,05, los promedios poblacionales del tratamiento convencional a los 30 y 60 días del proceso de compostaje son estadísticamente iguales, es decir, se acepta la hipótesis nula; sin embargo, el promedio bajo está en el tratamiento convencional a los 30, y el promedio alto está a los 60 días, tal como se evidencia en la figura 4.

En cuanto a la comparación entre el tratamiento experimental a los 30 días y el tratamiento experimental a los 60 días de compostaje, se plantearon las siguientes hipótesis:

1. Hipótesis nula: los promedios poblacionales del tratamiento experimental a los 30 y 60 días de compostaje son estadísticamente iguales.

2. Hipótesis alterna: los promedios poblacionales del tratamiento experimental a los 30 y 60 días de compostaje son estadísticamente diferentes.

De acuerdo con los resultados obtenidos mediante la Prueba t, cuyo valor es de 0,04288, con un valor de p equivale a 0,9761, se obtuvo el siguiente análisis estadístico:

Como el valor p práctico es igual a 0,9761, es decir, es mayor a 0,05, los promedios poblacionales del tratamiento experimental, a los 30 y 60 días del proceso de compostaje, son estadísticamente iguales, es decir, se acepta la hipótesis nula; sin embargo, el promedio bajo está en el tratamiento experimental a los 60 y el promedio alto está a los 30 días, tal como se puede apreciar en la figura 5.

En la parte final del análisis estadístico se hizo la comparación de los promedios de los recuentos poblacionales de los microorganismos.

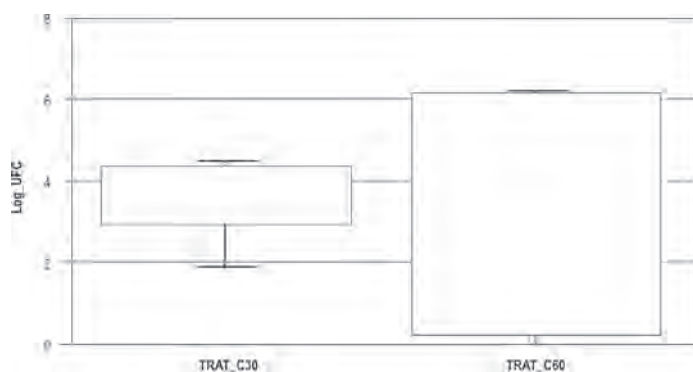


Figura 4. Comparación entre el tratamiento convencional a los 30 y 60 días.

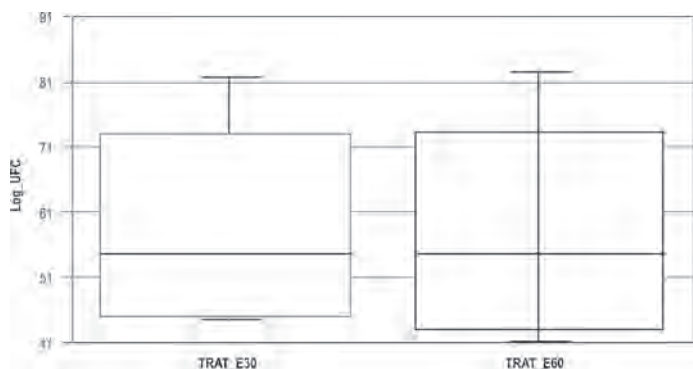


Figura 5. Comparación entre el tratamiento experimental a los 30 y 60 días.

mos objeto de estudio entre los dos tratamientos: convencional y experimental; se tuvieron en cuenta las siguientes hipótesis:

1. Hipótesis nula: los promedios poblacionales entre el tratamiento convencional y el tratamiento experimental son estadísticamente iguales.
2. Hipótesis alterna: los promedios poblacionales entre el tratamiento convencional y el tratamiento experimental son estadísticamente diferentes.

Los resultados obtenidos mediante la Prueba t, cuyo valor es de -0.7789, con un valor de p equivale a 0,4656, se obtuvo el siguiente análisis estadístico:

Como el valor p práctico es igual a 0,4656, es decir, es mayor a 0,05, los promedios poblacionales son estadísticamente iguales; por tanto, se acepta la hipótesis nula; sin embargo, el promedio bajo está en el tratamiento convencional y el alto está en el tratamiento experimental, según lo indica la figura 6.

Caracterización macroscópica y microscópica de los hongos. Se aislaron e identificaron con base en diferentes claves taxonómicas 6 géneros diferentes de hongos: *Fusarium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Moniliella* y *Curvularia*, y dos morfotipos distintos de levaduras. En los primeros cinco días de

compostaje predominaron las levaduras y los géneros *Fusarium* y *Cladosporium*, como se puede evidenciar en la tabla 1.

Aunque los hongos del género *Fusarium* se desarrollan mejor bajo temperaturas alrededor de los 42 °C, los resultados evidenciaron que el microorganismo fue recuperado en una muestra que registró una temperatura de 44,9 °C, la cual no es suficiente para controlarlo, ya que como lo afirman diferentes autores la tasa de mortalidad está en función del tiempo y de la temperatura: cuando el proceso de compostaje funciona correctamente, se pone de manifiesto que la mayoría de los organismos patógenos mueren cuando se exponen todas las partes de la pila a temperaturas de 55 °C (Muñoz , 2005).

Otro género aislado en este estudio fue *Cladosporium*, el cual ha sido reportado como uno de los principales géneros de hongos presentes en suelos agrícolas (Bever *et al.*, 2001); en relación con los dos morfotipos correspondientes al género *Aspergillus*, su presencia obedece a las temperaturas registradas: 53,3 °C y 46,5 °C, considerándolos, así, especies termófilas responsables de la maduración del compost.

En la fase final del proceso de compostaje (105 días), se identificaron tres géneros poco comunes: *Scopulariopsis*, *Moniliella* y *Curvularia*

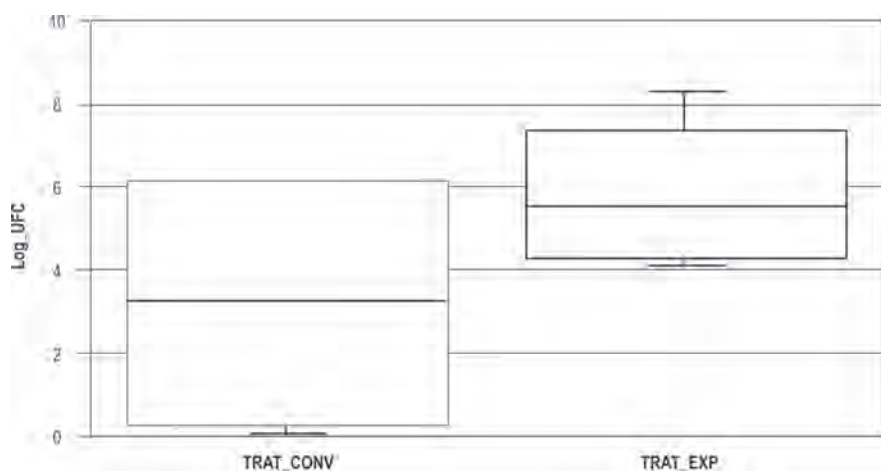


Figura 6. Comparación de los promedios poblacionales entre el tratamiento convencional y experimental.

Tabla 1. Descripción macroscópica y microscópica de los hongos cultivados en el agar GGY en distintas fases del compostaje

| Tiempo de compostaje | Morfotipo | Descripción macroscópica | Descripción microscópica (tinción con azul de lactofenol) |
|------------------------------------|-----------|---|---|
| 5 días | 1 | Colonia blanca, algodonosa, centro rosado al reverso | Hifas septadas, conidias unicelulares dispuestas en cadenas (género <i>Cladosporium</i>) |
| 5 días | 2 | Colonias de consistencia cremosa y borde irregular | Levaduras |
| 5 días | 3 | Colonias de consistencia cremosa, color rosado, forma radiada y umbonada | Levaduras pequeñas, centro oscuro, esféricas, agrupadas en masas, sin cápsula, sin gemación |
| 5 días | 4 | Colonia blanca al anverso, con centro pétreo de color negro, café al reverso, vellosa | Conidias septadas en forma de banano (género <i>Fusarium</i>) |
| 5 días | 5 | Colonia verde al anverso y negro al reverso, de bordes blancos, vellosa, con surcos | Conidias septadas en forma de banano (género <i>Fusarium</i>) |
| 1 mes | 6 | Colonia verdosa, borde blanco, pulverulenta | Conidióforos con hinchamiento apical, conidias pequeñas, verdosas y dispuestas en cadena (género <i>Aspergillus</i>) |
| 2 meses | 7 | Colonia verde oscuro, pulverulenta | Conidióforos con hinchamiento apical, conidias pequeñas, verdosas y dispuestas en cadena (género <i>Aspergillus</i>) |
| 2 meses | 8 | Colonia dematiácea, con puntos negros, de aspecto vellosa | Conidióforo oscuro, conidias de color negro (género <i>Aspergillus</i>) |
| 2 meses | 9 | Colonia blanca al anverso, miel al reverso, concéntrica, de consistencia pétrea | Hifas septadas, conidias unicelulares dispuestas en cadenas (género <i>Cladosporium</i>) |
| 3 meses y medio | 10 | Colonia de pigmento café claro, borde irregular, centro elevado, de aspecto vellosa | Células conidiogénicas anelídicas (género <i>Scopulariopsis</i>) |
| 3 meses y medio | 11 | Colonias pequeñas, de color blanco, de consistencia pétrea | Hifas azul-verdoso, conidias dispuestas en cadena (género <i>Moniliella</i>) |
| 3 meses y medio | 12 | Colonias de aspecto vellosa, centro de color gris y bordes blancos, al reverso de color negro | Hifas fragmentadas, macroconidias segmentadas (fragmoconidios) (género <i>Curvularia</i> *) |
| 2 meses (Tratamiento experimental) | 13 | Colonias de color beige, grandes, de bordes irregulares, aspecto ceroso | Levaduras encapsuladas |
| 2 meses (Tratamiento experimental) | 14 | Colonias color rojo salmón, grandes, de aspecto húmedo | Levaduras encapsuladas (género <i>Rhodotorula</i>) |

* Este género fue identificado a partir de una muestra cultivada en el medio ISP2.

(Arango *et al.*, 1988); el género *Curvularia* fue aislado del medio ISP2, empleado para el cultivo de actinomicetos y, según lo reporta la literatura, este hongo es considerado fitopatígeno (Calle, 2005).

De los residuos sólidos sometidos a tratamiento experimental se aislaron levaduras, una de ellas con producción de pigmento carotenoide rojo, característica propia de las levaduras del género *Rhodotorula* (Chalela, 1994). Aunque este hongo es poco común en un proceso de compostaje, se ha demostrado que es capaz de resistir los procesos normales de pasteurización comercial (63-71 °C) y, por ello, se puede explicar que su crecimiento se presentara en la pila que registró una temperatura de 52 °C. Se ha comprobado que la melanización está directamente relacionada con el desarrollo de las colonias fúngicas, y que ciertos metabolitos volátiles pueden impedir la formación de estructuras reproductivas, esclerocios y conidios, reduciendo así la eficiencia patogénica de las mismas. Las melaninas también están asociadas a la protección del hongo a la luz UV, desecación, temperaturas extremas, y a la resistencia al ataque de otros microorganismos. Las esporas y los micelio hialinos son rápidamente lisados en el suelo, mientras que las células melanizadas pueden sobrevivir por varios años.

Según Bejarano (2005), las **levaduras** degradan proteínas complejas y carbohidratos, a la vez que producen sustancias bioactivas (vitaminas, hormonas, enzimas) que pueden estimular el crecimiento y la actividad de otras especies de **microorganismos eficientes** (EM), así como de plantas superiores.

Caracterización macroscópica y microscópica de los actinomicetos. La tabla 2 muestra las características macroscópicas y microscópicas de actinomicetos, aislados en distintas etapas del compostaje, bajo tratamientos diferentes.

El medio de cultivo empleado para el aislamiento de actinomicetos favoreció el crecimiento de formas bacilares gramnegativas

(41,66%), formas cocoides grampositivas y cocobacilos gramnegativos, las cuales han sido reportadas en investigaciones que han evaluado el desarrollo de este grupo funcional de microorganismos (Díaz, 2006); también se identificaron hifas y formas bacilares grampositivas (62,5%) en etapa de esporulación. En las muestras de residuos sólidos sometidos a tratamiento experimental, durante 30 a 60 días, fueron identificadas formas filamentosas, algunas ramificadas, grampositivas, características que corresponden a especies del género *Streptomyces* (Martín, 1994). Como se discutió en el resultado de la medición de los tamaños poblacionales de estos microorganismos, su número, por cierto escaso, obedeció a la profundidad de sometimiento de las muestras (parte media de la pila), en donde la densidad celular calculada, por medio de técnicas de placa, disminuye con la profundidad en el perfil de la pila de compostaje.

Caracterización bioquímica. Mediante el sistema api 20 NE (bioMérieux), que emplea colonias de cultivos frescos de APC y cetrimide (de no más de 24 horas de crecimiento), se pudieron identificar las siguientes especies: *Pseudomonas fluorescens* (con un porcentaje de confiabilidad de 99,6%), *Aeromonas hydrophila* (con un porcentaje de confiabilidad de 98,7%) y *Pseudomonas luteola* (con un porcentaje de confiabilidad de 88%).

Conclusiones

La investigación realizada permitió identificar que las pseudomonas presentaron los promedios de recuentos poblacionales más altos durante el tratamiento convencional de los residuos sólidos a lo largo del desarrollo de las cuatro fases del proceso de compostaje analizadas, mientras que durante el tratamiento experimental las heterótrofas totales y los microorganismos cultivados en el medio ISP2, presentaron los promedios más altos.

Los resultados de los tamaños poblacionales, estudiados durante un periodo de tiempo

Tabla 2. Descripción macroscópica y microscópica de los microorganismos cultivados en agar ISP2 en distintas fases del compostaje

| Tiempo de compostaje | Morfotipo | Descripción macroscópica | Descripción microscópica (según tinción de gram) |
|----------------------------------|-----------|---|--|
| 5 días | 1 | Colonia de aspecto veloso, de color blanco al anverso y rosado al reverso | Hifas cortas y largas, asociadas con diplobacilos grampositivos |
| 5 días | 2 | Colonia de aspecto veloso, de color verde al anverso y marrón al reverso | Hifas fragmentadas y ramificadas, asociadas con cocos grampositivos |
| 5 días | 3 | Colonia de aspecto veloso, de color gris al anverso y marrón al reverso | Hifas fragmentadas y ramificadas, asociadas con cocos grampositivos |
| 5 días | 4 | Colonia de borde irregular, seca, de color beige | Bacilos gramnegativos, solitarios y en parejas, cocos grampositivos |
| 5 días | 5 | Colonia algodonosa, de color naranja al reverso y con pigmento difusible en el medio de color naranja | Hifas fragmentadas y ramificadas, asociadas con cocos grampositivos |
| 5 días | 6 | Colonia algodonosa, borde marrón, reverso marrón, pigmento difusible al medio de color naranja | Hifas fragmentadas y ramificadas, asociadas con diplobacilos grampositivos |
| 1 mes | 7 | Colonias brillantes, de color amarillo | Bacilos gramnegativos dispuestos en cadena (estreptobacilos) |
| 1 mes | 8 | Colonia de forma irregular, plegada hacia el centro, de color beige | Bacilos grampositivos, delgados, dispuestos en cadena |
| 1 mes | 9 | Colonias de aspecto cremoso, brillantes | Bacilos gramnegativos, delgados y cortos |
| 2 meses | 10 | Colonias vellosas, de color naranja y forma radiada | Hifas cortas y largas, asociadas con diplobacilos grampositivos |
| 2 meses | 11 | Colonia de aspecto veloso, de color gris al anverso y color negro al reverso | Hifas fragmentadas y ramificadas asociadas con cocobacilos gramnegativos |
| 2 meses | 12 | Colonias de forma irregular, plegadas hacia el centro, húmedas y de color beige | Bacilos grampositivos, gruesos y cortos, dispuestos en cadena, esporulados |
| 2 meses | 13 | Colonias de forma circular y de color negro | Hifas fragmentadas y ramificadas, asociadas con bacilos grampositivos, largos y delgados, dispuestos en cadena |
| 3 meses y medio | 14 | Colonias de borde irregular, plegadas hacia el centro, húmedas y de color beige | Bacilos gramnegativos, delgados, largos y dispuestos en cadenas, cocos grampositivos |
| 3 meses y medio | 15 | Colonia de aspecto veloso, centro gris, bordes blancos y al reverso de coloración negra | Bacilos gramnegativos, largos y delgados, dispuestos en cadena |
| 3 meses y medio | 16 | Colonias de borde irregular, cremosas y de color beige | Bacilos gramnegativos, cortos y delgados, dispuestos en cadenas |
| 1 mes (Tratamiento experimental) | 17 | Colonias secas, plegadas hacia el centro, de color beige y bordes irregulares | Bacilos gramvariables, largos y delgados, esporulados, agrupados en cadenas y otros en parejas |
| 1 mes (Tratamiento experimental) | 18 | Colonias brillantes, de aspecto húmedo y de color amarillo claro | Bacilos grampositivos, gruesos, cortos y largos, dispuestos en cadenas y en parejas |

| Tiempo de compostaje | Morfotipo | Descripción macroscópica | Descripción microscópica (según tinción de gram) |
|---------------------------------------|-----------|---|--|
| 1 mes (Tratamiento experimental) | 19 | Colonias de aspecto veloso, pequeñas, de color blanco y adheridas fuertemente al medio de cultivo | Filamentos gramnegativos, largos y delgados, ramificados (género <i>Streptomyces sp.</i>) |
| 2 meses (Tratamiento experimental) | 20 | Colonias cremosas de color beige | Bacilos gramvariables, cortos y anchos, esporulados, agrupados en cadena y en parejas |
| 2 meses (Tratamiento experimental) | 21 | Colonias secas de color beige | Bacilos gramnegativos, cortos y anchos, esporulados, agrupados en cadena y en parejas; diplobacilos grampositivos largos y gruesos; filamentos largos, delgados y ramificados, grampositivos (género <i>Streptomyces sp.</i>) |
| 2 meses (Tratamiento experimental) | 22 | Colonias secas, plegadas hacia el centro, de color beige | Filamentos largos, delgados y ramificados, grampositivos, (género <i>Streptomyces sp.</i>) |
| 2 meses (Tratamiento experimental) | 23 | Colonias lobuladas, secas y de color beige | Bacilos gramvariables, cortos y anchos, esporulados, solitarios y agrupados en cadena |
| 2 meses (Tratamiento experimental) | 24 | Colonias secas, con formación de anillo en el centro, color beige | Bacilos gramvariables, cortos y anchos, esporulados, agrupados en parejas y en cadenas |

de 105 días y tratados mediante la metodología convencional, indican que en esta etapa del proceso el producto final es estable y maduro.

En las pruebas preliminares de caracterización de bacterias se aislaron e identificaron, sobre la base de la morfología celular y propiedades en el medio de cultivo, algunos géneros bacterianos propios del proceso de compostaje como *Pseudomonas* y *Bacillus*.

La caracterización de hongos reveló la presencia de géneros propios del proceso de compostaje y de otros menos comunes, que pueden corresponder a especies fitopatógenas o antagonistas, según el caso.

El crecimiento de los actinomicetos está determinado por la competencia que ejercen hongos y bacterias pero, además, por la profundidad a la cual se toma la muestra para su posterior análisis.

Aunque los tamaños poblacionales de los cuatro grupos funcionales de microorganismos estudiados fueron más altos durante el

tratamiento experimental de los residuos sólidos, respecto del tratamiento convencional de los mismos el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre uno y otro tratamiento.

Agradecimientos

A la M. Sc. Adriana Rueda Ulloa; Ph. D. Pilar Ximena Lizarazo; Ms. Luis Fernando Nieto Ruiz; al estadista Daniel Galindo, a los auxiliares de laboratorio de la Escuela de Ciencias Biológicas de la UPTC, y al personal directivo y administrativo de Corpochivor.

Referencias bibliográficas

- Arango, M. *et al.* 1988. Manual Hongos contaminantes del laboratorio. Bogotá: Instituto Nacional de Salud y Corporación para Investigaciones Biológicas.
- Atlas, R., Bartha, R. 2002. Ecología microbiana y Microbiología ambiental. Madrid: Prentice Hall.
- Bejarano, H. 2005. Elaboración, uso y manejo de los abonos orgánicos. Chocó: Universidad Tecnológica del Chocó.

- Bever, *et al.* 2001. Arbuscular mycorrhizal Fungi: more diverse than meets the eye and the ecology tales of why. *Bioscience* 51: 923-930.
- Calle, J. 2005. Caracterización morfológica y molecular de hongos fitopatógenos de suelo e identificación de bacterias foliares en el cultivo de cebolla. Puerto Rico: Universidad de Puerto Rico.
- Chalela, G. 1994. Microbiología. Bucaramanga: Instituto de Educación a Distancia, Universidad Industrial de Santander. p. 103.
- Díaz, H. 2006. Estudio comparativo de la microbiota edáfica en cultivos de arveja (*Pisum sativa*) con rotación de abonos verdes, avarna (*Avena sativa*), y labranza tradicional en Samacá, Boyacá. Tunja: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de Ciencias Básicas.
- García, J. 2000. Apuntes de agricultura orgánica sostenible y sustentable. Tunja: Instituto Universitario Juan de Castellanos.
- Martín, A. 1994. Ecología microbiana. México: AGT Editor. pp. 47-61.
- Muñoz, J. 2005. Compostaje en Pescador, Cauca: tecnología apropiada para el manejo de residuos orgánicos y su contribución a la solución de los problemas medioambientales. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración.
- Muyzer, 1999. DGGE/TGGE: un método para la identificación de genes a partir de ecosistemas naturales. *Curr Opin Microbiol* 2: 317-322.
- Ramírez, P., Cocha, J. M. 2003. Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Revista Peruana de Biología* 10 (1): 1-14.
- Raver, J. *et al.* 2000. Interspecific Transfer of *Streptomyces* giant linear plasmids in sterile attended soil microcosms. *Applied and Environmental Microbiology* 66 (2): 529-534.
- Rojas, S. 2006. Determinación de fosfatasa ácida y grupos funcionales de microorganismos a través de un proceso de compostaje. Tunja: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de Ciencias Básicas.
- Tchobanoglous G. *et al.* 1994. Gestión integral de residuos sólidos. Madrid: McGraw Hill Interamericana.