



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**



**Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada  
CIBA- IPN Tlaxcala**

**ESTUDIO DE POBLACIONES MICROBIANAS FACILITADORAS DEL  
PROCESO DE COMPOSTAJE PARA EL APROVECHAMIENTO DE  
DESECHOS INDUSTRIALES NO TÓXICOS**

**Presenta:**

**Lic. Cleotilde Violeta Arguello Hernández**

**Tesis para obtener el grado de  
Maestría en Tecnología Avanzada**

**Tlaxcala, México. Junio 2009**



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**



**Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada  
CIBA- IPN Tlaxcala**

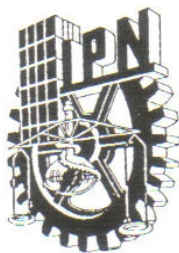
**ESTUDIO DE POBLACIONES MICROBIANAS FACILITADORAS DEL  
PROCESO DE COMPOSTAJE PARA EL APROVECHAMIENTO DE  
DESECHOS INDUSTRIALES NO TÓXICOS**

**Presenta:**

**Lic. Cleotilde Violeta Arguello Hernández**

**Tesis para obtener el grado de  
Maestría en Tecnología Avanzada**

**Tlaxcala, México. Junio 2009**



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESIÓN DE DERECHOS*

En la Ciudad de Lardizábal, Tlaxcala el día 15 del mes junio del año 2009, el (la) que suscribe CLEOTILDE VIOLETA ARGUELLO HERNÁNDEZ alumno (a) del Programa de Maestría en Tecnología Avanzada con número de registro A070470, adscrito a CIBA-IPN, Tlaxcala, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de DRA. MARIA DEL CARMEN VILLEGAS HERNANDEZ y cede los derechos del trabajo intitulado "Estudio de poblaciones microbianas facilitadoras del proceso de compostaje para el aprovechamiento de desechos industriales no tóxicos", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección mdvillegas@ipn.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

---

**CLEOTILDE VIOLETA ARGUELLO HERNÁNDEZ**

## DEDICATORIAS

A mis hijos, **Grecia Berenice y Rafaelito**

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por permitirme lograr una meta más en mi vida

A la **Dra. Mary Carmen Villegas**, mi **Directora de Tesis**, por creer en mí, por la transmisión de sus conocimientos, por su paciencia, por todo el apoyo que me brindó durante la realización de este trabajo.

A la **Dra. Myrna Solís Oba**, por su paciencia, apoyo y comprensión que tuvo para conmigo durante todo este tiempo.

A la **Dra. Érika Quintana** por su apoyo en la realización de este trabajo.

Al **Dr. Joel Díaz** y al **M.C. Miguel Ángel Placencia**, por formar parte de mi comité tutorial.

A todos ellos por el tiempo que dedicaron para que este trabajo saliera adelante.

A **Rafa**, mi esposo, por el apoyo incondicional que me brindó en todo momento.

A **Grecia Berenice y a Rafaelito**, por su paciencia, por su espera, por su comprensión...

A mis hermanas, **Marisa, Gloribel y Olga**, por cuidar de mis hijos durante todo este tiempo.

**Agradezco al Fondo Mixto CONACYT-Gobierno de Tlaxcala y al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) del IPN por las becas otorgadas durante la realización de este trabajo.**

**Este trabajo se desarrolló dentro del marco de un proyecto vinculado, convenido bajo CLÁUSULA DE CONFIDENCIALIDAD entre CIBA-IPN, Tlaxcala y PANAMCO S.A. de C.V.**

## ÍNDICE DE CAPÍTULOS

No.	Capítulo	Página
	Índice de capítulos .....	7
	Índice de figuras .....	9
	Índice de tablas .....	11
	Resumen .....	13
	Abstract .....	14
	Glosario .....	15
1	Introducción .....	17
1.1	La composta .....	18
1.2	El proceso de compostaje .....	19
1.3	Elementos esenciales para el compostaje .....	20
1.4	Factores que condicionan el proceso de compostaje .....	21
1.5	Fases de maduración de la composta .....	23
1.6	Uso de la composta en suelos degradados .....	25
2	Antecedentes .....	26
2.1	Desechos sólidos urbanos .....	26
2.2	Desechos no tóxicos .....	32
2.3	Materia orgánica .....	32
2.4	Aguas residuales .....	32
2.5	Lodos .....	33
3	Justificación .....	35
4	Objetivo General .....	36
4.1	Objetivos particulares .....	36
5	Materiales y métodos .....	37
5.1	Toma de muestra de suelo y de composta .....	37
5.2	Aislamiento microbiano .....	37
5.3	Propagación microbiana .....	38
5.4	Ensayos de compostaje en invernadero .....	39
5.5	Ensayos de fitotoxicidad de las diferentes mezclas en frijol, maíz y lechuga. ....	41

6	Resultados y discusión .....	44
6.1	Muestreo y aislamiento microbiano .....	44
6.2	Propagación microbiana.....	46
6.3	Ensayos de compostaje en invernadero .....	48
6.4	Ensayos de fitotoxicidad y desarrollo vegetal sobre frijol y maíz .....	60
6.5	Evaluación de la fitotoxicidad de compostas experimentales .....	69
7	Conclusiones .....	73
8	Perspectivas y recomendaciones .....	74
9	Anexos .....	75
10	Referencias bibliográficas .....	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

No.	Título	Página
1	Curva teórica de la evolución de la temperatura durante el compostaje .....	25
2	Tiraderos a cielo abierto por entidad federativa en la República Mexicana .....	28
3	Ubicación del Municipio de Alzayanca en el Estado de Tlaxcala.....	29
4	Mapa del lugar donde se obtuvo el suelo de bosque, González Ortega, La Fragua, Pue .....	38
5	Crecimiento de hongos aislados de suelo de bosque (A) y composta doméstica (B).....	45
6	Cajas Petri con medio PDA y sustituyentes de fuentes de C y N (A) lodos industriales no tóxicos sin esterilizar y (B) lodos industriales no tóxicos esterilizados.....	48
7	Temperatura de las mezclas durante el proceso de compostaje, experimento "A".....	50
8	Temperatura de las mezclas durante el proceso de compostaje, experimento "B".....	51
9	Composta No. 3 inoculada con la cepa H3C y composta testigo, experimento "A".....	59
10	Plantas de maíz cultivadas en mezclas inoculadas con la cepa H3C y planta testigo a 120 días de iniciado el procesos de compostaje.....	63
11	Plantas de maíz cultivadas en mezclas inoculadas con la cepa H1B y planta testigo a 120 días de iniciado el proceso de compostaje.....	66
12	Germinación de semillas de frijol en colmostas de 30 y 120 días de madurez de las mezclas .....	68



13	Germinación de semillas de maíz a 30, 120 y 150 días de madurez de las mezclas .....	69
14	Plántulas de lechuga regadas con los diferentes extractos de mezclas. Experimento “A” y “B” y H <sub>2</sub> O .....	71
15	Porcentaje de germinación de semillas de lechuga .....	72

---

## ÍNDICE DE TABLAS

---

No. Tabla	Título	Página
1	Composición de mezclas de compostaje a nivel invernadero (Experimento "A")	39
2	Composición de mezclas de compostaje a nivel invernadero (Experimento "B") .....	40
3	Biomasa en cajas Petri utilizada para la inoculación de mezclas .....	41
4	Crecimiento de hongos y bacterias en diferentes medios de cultivo expresado en cruces, incubados a 37 °C durante 7 días.....	46
5	pH de las mezclas durante el proceso .....	49
6	Características físicas de las mezclas de los experimentos "A" y "B" a 30 días de compostaje.....	53
7	Características físicas de las mezclas de los experimentos "A" y "B" a 60 días de compostaje.....	54
8	Características físicas de las mezclas de los experimentos "A" y "B" a 90 días de compostaje.....	55
9	Características físicas de las mezclas de los experimentos "A" y "B" a 120 días de compostaje.....	56
10	Características físicas de las mezclas de los experimentos "A" y "B" a 150 días de compostaje.....	57
11	Siembra de frijol en mezclas después de 30 días de iniciado el proceso de compostaje.....	61
12	Siembra de maíz en mezclas después de 30 días de iniciado el proceso de compostaje .....	62
13	Siembra de frijol en mezclas después de 120 días de iniciado el proceso de compostaje .....	64
14	Siembra de maíz en mezclas después de 120 días de iniciado el proceso de compostaje .....	65

15	Siembra de maíz en mezclas con madurez de 150 días de iniciado el proceso de compostaje .....	67
16	Ensayos de fitotoxicidad de las compostas .....	69

## RESUMEN

---

La erosión del suelo se está acelerando en todos los continentes y está degradando unos 2.000 millones de hectáreas de tierra de cultivo y de pastoreo, lo que representa una seria amenaza para el abastecimiento global de víveres. Cada año la erosión de los suelos provoca una pérdida de entre 5 y 7 millones de hectáreas de tierras cultivables, por lo que es urgente encontrar alternativas de solución para rescatarlos. Por otro lado, existen los desechos industriales no tóxicos de diversos tipos de empresas que representan fuentes potenciales de carbono y nitrógeno, y que se pueden incluir en un proceso de compostaje para su aprovechamiento y de esta forma restablecer suelos con actividad agrícola. El presente trabajo propone el aislamiento de cepas microbianas de suelo de bosque y de composta doméstica con capacidad degradadora de lodos industriales no tóxicos, para mejorar el proceso de compostaje con la idea de reducir tiempo de procesado. Se probaron 2 mezclas de composta a nivel invernadero con y sin inoculación de hongos para determinar el efecto de reducción en el tiempo de maduración. Se seleccionaron cepas fúngicas que permitieron reducir en una tercera parte del tiempo el periodo de maduración de las compostas, en ensayos a nivel invernadero. La inocuidad de las compostas obtenidas se verificó mediante ensayos de fitotoxicidad sobre semillas de lechuga, frijol y maíz.

## ABSTRACT

---

Soil erosion is accelerating in all continents and is degrading some 2,000 million hectares of croplands and pasture, which represents a serious threat to global food supply. Each year, soil erosion causes a loss of 5 to 7 million hectares of arable lands that is why to find alternative solutions to rescue these lands is urgent. On the other hand, there are non-toxic industrial sludges of several companies that represent potential sources of carbon and nitrogen and which may be included in a composting process for their use and thus restore agricultural soils. This work proposes the isolation of microbial strains from forest soil and domestic compost with capacity for degrading non-toxic industrial sludge, as a way to improve the composting process. Different mixes of composition were tested in a composting process under greenhouse conditions, with or without inoculation, to determine the effect of inoculation on reducing the period of maturation. Fungal strains that allowed reducing in one third of the time period of the maturation of compost, under greenhouse trials, were selected. Harmlessness of the obtained compost was verified by testing phytotoxicity on lettuce, beans and corn seeds.

## GLOSARIO

---

**Actinomicetos:** Son un grupo de bacterias, en su mayoría filamentosas que tienen similitud con los hongos, por la morfología, tipo de reproducción y crecimiento en medios de cultivo sólidos y líquidos.

**Bioaumentación:** Consiste en la adición de microorganismos vivos, que tengan la capacidad para degradar el contaminante en cuestión, para promover su biodegradación o su biotransformación. El tamaño del inóculo a utilizar, depende del tamaño de la zona contaminada, de la dispersión de los contaminantes y de la velocidad de crecimiento de los microorganismos degradadores. Definición según Tejeda *et.al.* (2002).

**Biorremediar:** Tratar suelos y sedimentos contaminados con compuestos orgánicos biodegradables, para obtener subproductos inocuos y estables. El material contaminado se mezcla con agentes de volumen (paja, aserrín, estiércol, desechos agrícolas), que son sustancias orgánicas sólidas biodegradables, adicionadas para mejorar el balance de nutrientes, así como para asegurar una mejor aireación y la generación del calor durante el proceso.

**Celulosa:** Es un polisacárido compuesto exclusivamente de moléculas de glucosa; es pues un homopolisacárido; es rígido, insoluble en agua, y contiene desde varios cientos hasta varios miles de unidades de  $\beta$ -glucosa. La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre.

**Cepa:** Es una variante genotípica de una especie o, incluso, de un taxon inferior, usualmente propagada, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias.

**Degradación:** Proceso inducido antrópico, o natural para funcionar efectivamente dentro de un ecosistema para aceptar, almacenar y reciclar agua, energía y nutrientes. Ésta ocurre cuando el suelo pierde importantes propiedades como producto de una inadecuada utilización de maquinarias y herramientas agrícolas.

**Desechos industriales no tóxicos:** Residuos de la producción que no contengan sustancias tóxicas al ambiente como los lodos de tratamiento de aguas residuales, el cartón y el papel.

**Enzimas hidrolíticas:** Enzimas responsables de la degradación de polisacáridos y de la oxidación de la lignina.

**Erosión:** Desgaste de la superficie terrestre por agentes externos, como el agua o el viento.

**Hemicelulosa:** Es un heteropolisacárido (polisacárido compuesto por más de un tipo de monómero), formados por un sólo tipo de monosacáridos unidos por enlaces  $\beta$  (1-4)(fundamentalmente xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, glucosa y ácido glucorónico) , que forman una cadena lineal ramificada, (glucosa, galactosa y fructosa). Forma parte de las paredes de las diferentes células de los tejidos vegetales, recubriendo la superficie de las fibras de celulosa y permitiendo el enlace de pectina.

**Lignina:** es un polímero amorfo, se caracteriza por ser un complejo aromático, está formada por la extracción irreversible del agua de los azúcares, creando compuestos aromáticos.

**Mantillo:** Parte orgánica del suelo formada por la descomposición parcial de materias animales y vegetales.

**Mn-Peroxidasa:** Es la enzima que cataliza la reacción de oxidación del ion manganeso (+2) a manganeso (+3) utilizando para ello peróxido de hidrógeno.

**Residuos celulósicos:** pulpa de madera, aserrín, corteza, hojas, paja, turba, etc.,.

**Termófilos:** Organismo que necesita temperaturas de más de 45 °C para su normal desarrollo.

# 1. INTRODUCCIÓN

---

La población humana crece según una progresión geométrica, por lo tanto cada vez es mayor la demanda de alimentos y también las necesidades básicas para la vida del hombre. Esto implica un aumento de materias primas y de energías, de productos finales y de desechos, desarrollo que está provocando grandes alteraciones al planeta: regiones enteras en las zonas de los trópicos se han convertido en desiertos, han desaparecido especies de animales y vegetales para siempre, y otras están en peligro de extinción. El hombre utiliza las materias primas naturales como si fueran inagotables; los productos finales y los materiales de desecho son vertidos al ambiente, acción que provoca la contaminación (Weston, 2003). Esta última es una preocupación mundial y, desde hace aproximadamente dos décadas, se han identificado los principales problemas, uno de ellos es la ecología, por lo que se ha propuesto buscar el desarrollo sustentable, para mejorar y preservar la calidad del ambiente (Weston, 2003)

Por otro lado, la materia orgánica representa un alto porcentaje de los residuos sólidos en México, los que pueden ser tratados mediante un proceso de compostaje con la técnica de bioaumentación con cepas que posean la capacidad de degradar materiales celulósicos, lignocelulósicos y otros de difícil degradación. Para ello, se requiere de muy eficientes sistemas enzimáticos extracelulares; sistemas hidrolíticos, que producen hidrolasas responsables de la degradación de polisacáridos recalcitrantes, como la lignina que se encuentra en los residuos de papel, residuos agrícolas, residuos sólidos municipales, particularmente los que abundan en la naturaleza y tienen posibilidad de bioconversión (Sauri, 2002; René, 2002).

Además, la acumulación de desechos industriales no tóxicos en grandes cantidades en lugares donde representan un problema de eliminación, no sólo significan el deterioro del medio ambiente, sino también la pérdida de materiales potencialmente valiosos que pueden ser utilizados en un proceso de compostaje (René *et al.*, 2002).



## **1.1 La composta**

El humus obtenido de manera natural por descomposición bioquímica de residuos orgánicos, como restos vegetales, animales y excrementos, favoreciendo las condiciones aeróbicas, se le llama composta y reproduce de forma masiva bacterias aerobias termófilas que están presentes en forma natural en cualquier lugar. Posteriormente, la degradación la continúan otras especies de bacterias, hongos y actinomicetos. Normalmente, se trata de evitar (en lo posible) la putrefacción de los residuos orgánicos, ya que el exceso de agua impide la aireación-oxigenación y crea condiciones biológicas anaeróbicas que desprenden olores desagradables (Humer y Lechner, 2001)

La composta se forma por la descomposición de productos orgánicos y sirve entre otros usos para abonar terrenos desgastados o pobres en nutrientes. Es un proceso de degradación natural donde no interviene la mano del hombre, los microorganismos son los que provocan el rompimiento de enlaces de los diferentes polisacáridos presentes en la mezcla. La degradación y descomposición de materiales orgánicos permite que el producto final se use para fertilizar y enriquecer cultivos. Es un producto inocuo ya que, cuando la materia orgánica se está descomponiendo, genera una temperatura de hasta 70° C, esto sirve para matar los huevecillos de insectos y la mayoría de los microorganismos que puedan causar enfermedades (Blanchette *et al.*, 1997; Ravinovich *et. al.*, 2002). En paisajismo y jardinería, la composta puede ser usada de forma directa como cobertura para el suelo. En cualquier caso, al igual que el propio suelo, no debe apilarse sobre los troncos de árboles y arbustos, ya que esta práctica provoca el aumento de los daños causados por insectos (Malherbe y Cloete, 2002). La composta mejora la estructura del suelo, incrementa la cantidad de materia orgánica y proporciona nutrientes, mayormente macronutrientes como el nitrógeno, potasio y fósforo (Malherbe y Cloete, 2002). Así mismo, es un producto concentrado que debe ser mezclado con el suelo u otros ingredientes antes de su uso. El porcentaje máximo de composta en esa mezcla es de alrededor del 30% y varía en función de su uso posterior (Malherbe y Cloete, 2002).

## **1.2 El proceso de compostaje**

Es un método que se define como la degradación de la fracción orgánica de los residuos sólidos por la acción de diversas poblaciones biológicas bajo condiciones controladas, hasta un estado lo suficientemente estable que permite su almacenamiento y utilización sin efectos nocivos (Díaz *et al.*, 1993). Sin embargo, aunque se han dado algunos esfuerzos en el país por implementar plantas de compostaje, éstas han sido un fracaso económico y en la mayoría de los casos se han cerrado, a pesar de que representan uno de los procesos más apropiados para el tratamiento de los desechos industriales no tóxicos.

En la actualidad, el panorama ambiental es muy complejo y, por ello, se ha desarrollado una jerarquía para el manejo de residuos sólidos (Epstein, 1997; Wilson, 1999); reducción en la fuente, reciclaje, compostaje y disposición final que en la mayoría de los casos se lleva a cabo en tiraderos a cielo abierto, y que por no ser tratados contaminan el entorno. Por otro lado, estudios sobre la degradación de compuestos orgánicos han demostrado que algunos microorganismos son extremadamente versátiles en la catabolización de moléculas recalcitrantes, por lo que aprovechando este potencial es posible biorremediar algunos sistemas ambientales contaminados. Las matrices del proceso de compostaje y la composta misma, son fuentes de microorganismos de degradación xenobiótica incluyendo bacterias, actinomicetos y hongos ligninolíticos, los cuales pueden degradar desechos industriales no tóxicos (Jeyabal y Kuppuswamy, 2001).

Cuando un proceso de compostaje se lleva a cabo de forma lenta en la propia naturaleza, puede prepararse un entorno optimizando las condiciones para que los agentes de la descomposición proliferen. Estas condiciones incluyen una mezcla correcta de carbono, nitrógeno y oxígeno, así como control de la temperatura, pH y humedad. Si alguno de estos elementos abundase o faltase, el proceso se produciría igualmente, pero quizás de forma más lenta e incluso desagradable por la actuación de microorganismos anaerobios que producen malos olores (Stach *et al.*, 2000; Zumstein *et al.*, 2000).

El compostaje más rápido tiene lugar cuando hay una relación (en seco) carbono-nitrógeno de entre 25/1 y 30/1, es decir, que haya entre 25 y 30 veces más carbono que nitrógeno. Por ello, muchas veces se mezclan componentes con distintas relaciones C/N, los recortes de césped tienen una relación 19/1 C/N y las hojas secas de 55/1 C/N, mezclando ambos a partes iguales se obtiene una materia prima óptima. Durante este proceso, es necesaria la presencia de celulosa (fuente de carbono) como la paja y hojas secas, astillas, aserrín y algunos tipos de papel y cartón sin tintas, así como las proteínas (fuente de nitrógeno) para poder obtener un proceso de excelente calidad (Stach *et al.*, 2000; Zumstein *et al.*, 2000). Un factor clave en el diseño de un proceso exitoso de compostaje radica en el diseño de su composición, lo cual puede llevar a un aumento en la velocidad de biodegradación de los materiales en cuestión (Chung, 2007).

Las aplicaciones más comunes del compostaje incluyen el tratamiento de residuos agrícolas, de desechos de jardinería o cocina y de residuos sólidos municipales. Los resultados de su aplicación han demostrado que una composta madura es una solución de bajo costo y tecnológicamente efectiva para remediar suelos contaminados por residuos orgánicos peligrosos como solventes, explosivos, pesticidas, entre otros (Apha, 1998; Chung, 2007).

### **1.3 Elementos esenciales para el compostaje**

En los bosques templados latifoliados, la hojarasca constituye la principal fuente de materia orgánica del suelo. Las principales macromoléculas componentes de la materia orgánica son: la celulosa, la hemicelulosa y la lignina, siendo este último considerado como el más recalcitrante. La hojarasca acumulada en el suelo es degradada por microorganismos tanto celulolíticos como ligninolíticos, entre los que se encuentran hongos y bacterias. La actividad de los hongos en las capas superiores de los bosques puede implicar una alta diversidad de poblaciones en términos de enzimas ligninolíticas. En general, la mayor degradación de material lignocelulolítico es impulsada principalmente por hongos ligninolíticos (Pérez *et al.* 2002). En la hojarasca en descomposición se desarrollan poblaciones de basidiomicetos, hongos productores de enzimas

ligninolíticas (lacasa, lignoperoxidasa y Mn-peroxidasa), también se producen enzimas hidrolíticas que son las que degradan la celulosa, la hemicelulosa y la quitina (Pérez *et al.* 2002). Las hidrolasas que tienen la capacidad de degradar los polisacáridos que constituyen la pared celular de los tejidos vegetales tales como la celulosa, la hemicelulosa y la lignina, reciben en la actualidad una mayor atención, principalmente en los desechos industriales (Jordan *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2002).

#### **1.4 Factores que condicionan el proceso de compostaje**

Como se ha comentado, el proceso de compostaje se basa en la actividad de microorganismos que viven en el entorno, ya que son los responsables de la descomposición de la materia orgánica. Para que estos microorganismos puedan vivir y desarrollar la actividad de degradación se necesitan condiciones óptimas de temperatura, humedad y oxigenación (Pérez *et al.*, 2002).

Los factores más importantes para el adecuado desarrollo de microorganismos son los tipos de suelo, la luz, la temperatura, el agua y los elementos minerales. El incremento de comunidades vegetales vecinas al incorporar nitrógeno al suelo a través de la hojarasca que cae al mismo, transfiere parte del N<sub>2</sub> que ellas asimilan hacia las plantas vecinas a través de la red subterránea de hifas de los hongos micorrízicos que van de unas plantas a otras (Jordan *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2002).

Son muchos y muy complejos los factores que intervienen en el proceso biológico del compostaje, estando a su vez influenciados por las condiciones ambientales, tipo de residuo a tratar y el tipo de técnica de compostaje empleada. Los factores más importantes son:

##### **Temperatura.**

Se consideran óptimas las temperaturas del intervalo 35-55 °C para conseguir la eliminación de patógenos, parásitos y semillas de malas hierbas. A temperaturas de 70 °C, muchos microorganismos interesantes para el proceso mueren y otros no actúan al estar esporulados (Pérez *et al.*, 2002).

La temperatura es un factor primordial para el crecimiento y metabolismo de las células. A medida que la temperatura aumenta, las reacciones bioquímicas al interior de la célula se aceleran. Sin embargo, por arriba de una cierta temperatura, proteínas y ácidos nucleicos principalmente pueden ser desnaturalizados, en el caso de los hongos, algunos pueden, excepcionalmente, desarrollarse a temperaturas superiores a 50 °C y son llamados termófilos o termotolerantes (Leclerc, 2001).

### **Humedad.**

En el proceso de compostaje es importante que la humedad alcance niveles óptimos de alrededor de 40-60%. Si el contenido en humedad es mayor, el agua ocupará todos los poros y, por lo tanto, el proceso se volvería anaeróbico, favoreciendo la putrefacción de la materia orgánica. Si la humedad es excesivamente baja se disminuye la actividad de los microorganismos y el proceso es más lento. El contenido de humedad dependerá de las materias primas empleadas, para materiales fibrosos o residuos forestales gruesos la humedad máxima permisible es del 75-85%, mientras que para material vegetal fresco ésta oscila entre 50-60% (Pérez *et al.*, 2002).

### **pH.**

El pH del medio influye en el proceso debido a su acción sobre la actividad microbiana. En general, los hongos toleran un margen de pH entre 5 y 8, mientras que las bacterias tienen menor capacidad de tolerancia, de 6 a 7,5 (Pérez *et al.*, 2002).

### **Oxígeno.**

El compostaje es un proceso aeróbico o anaeróbico, por lo que la presencia de oxígeno en las cantidades adecuadas es esencial. La concentración de oxígeno dependerá del tipo de material, textura, humedad, frecuencia de volteo y de la presencia o ausencia de aireación forzada (Pérez *et al.*, 2002).

### **Relación C/N equilibrada.**

El carbono y el nitrógeno son los dos constituyentes básicos de la materia orgánica. Por ello, para obtener un compostaje de buena calidad es importante

que exista una relación equilibrada entre ambos elementos. Teóricamente una relación C/N de 25-35 es la adecuada, pero esta variará en función del tipo de material que conforme la mezcla. Si la relación C/N es muy elevada, disminuye la actividad biológica. Una relación C/N muy baja afecta al proceso de compostaje, perdiendo el exceso de nitrógeno en forma de amoníaco y otros compuestos inorgánicos nitrogenados. Es importante diseñar una mezcla adecuada de los distintos residuos con diferentes relaciones C/N para obtener una composta equilibrada. Los materiales orgánicos ricos en carbono y pobres en nitrógeno son la paja, el heno seco, las hojas, las ramas, la turba y el aserrín. Los pobres en carbono y ricos en nitrógeno son los vegetales jóvenes, las deyecciones animales y los residuos de matadero (Pérez *et al.*, 2002).

### ***1.5 Fases de maduración del compostaje***

Dado que el compostaje es un proceso aeróbico de descomposición de la materia orgánica, llevado a cabo por una amplia gama de poblaciones de bacterias, hongos y actinomicetos, este proceso puede dividirse en cuatro fases, atendiendo a la evolución de la temperatura:

#### **Periodo mesofílico.**

La masa vegetal está a temperatura ambiente y los microorganismos mesófilos se multiplican rápidamente. Como consecuencia de la actividad metabólica la temperatura se eleva y se producen ácidos orgánicos que hacen bajar el pH (Delfin y Duran de Bazua, 2003; Quintero *et al.*, 2006; Rani *et al.*, 2008).

#### **Periodo termofílico.**

Cuando se alcanza una temperatura de 40 °C, los microorganismos termófilos actúan transformando el nitrógeno en amoníaco y el pH del medio vira a alcalino. A los 60 °C estos microorganismos termófilos desaparecen y aparecen las bacterias formadoras de esporas y actinomicetos. Estos microorganismos son los encargados de descomponer las proteínas y hemicelulosas (Delfin y Duran de Bazua, 2003; Quintero *et al.*, 2006; Rani *et al.*, 2008).

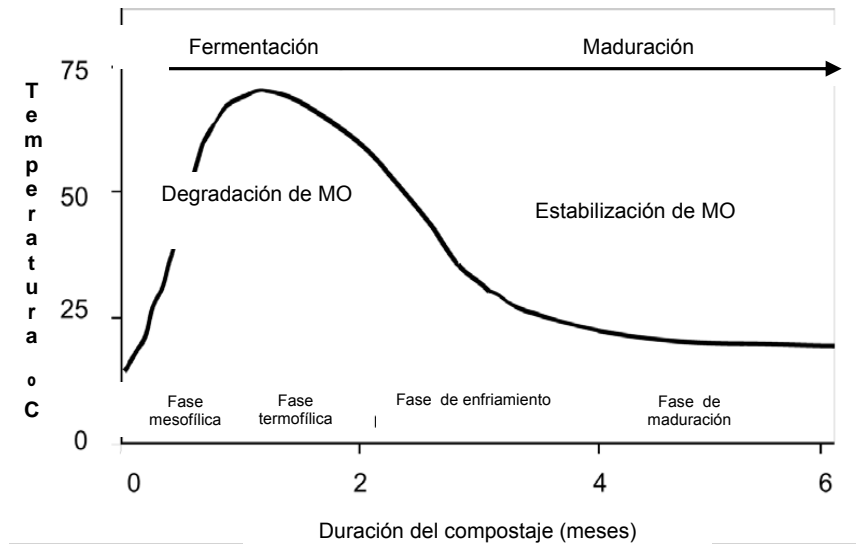
### **Periodo de enfriamiento.**

Cuando la temperatura es menor a 60 °C, reaparecen los microorganismos termófilos que reinvaden el mantillo y descomponen la celulosa. Al bajar de 40°C los microorganismos mesófilos también reinician su actividad y el pH del medio desciende ligeramente (Delfin y Duran de Bazua, 2003; Quintero *et al.*, 2006; Rani *et al.*, 2008).

### **Periodo de maduración.**

Es un periodo que puede requerir meses a temperatura ambiente, durante los cuales se producen reacciones secundarias de condensación y polimerización del humus (Delfin y Duran de Bazua, 2003; Quintero *et al.*, 2006; Rani *et al.*, 2008).

Las dos primeras fases (figura 1), se agrupan bajo el nombre de fase intensiva de degradación de la materia orgánica. Aunque la degradación se lleva a cabo principalmente bajo condiciones aerobias, algunos trabajos evidencian la posible presencia de sitios anaerobios durante la fase de degradación intensiva (Kirchmann, *et al.*, 2000), (ver figura 1).



**Figura 1. Curva teórica de la evolución de la temperatura durante el compostaje (Francou, 2003).**

### **1.6 Uso de la composta en suelos degradados**

Como consecuencia de las transformaciones del material orgánico y de las diversas sucesiones que se presentan durante el proceso, la composta tiene una alta diversidad microbiana (Persson *et al.*,1995; Beffa *et al.*,1996), con poblaciones mucho mayores que los suelos fértiles y que los suelos muy perturbados, por lo que en la mayoría de los casos la adición de composta incrementa las poblaciones y la actividad microbiana; el único inconveniente es que este método de biodegradación se lleva a cabo en fase sólida por lo que su proceso es muy lento (Sauri, 2002). Existe una interrogante en cuanto a los resultados de los experimentos llevados a cabo a nivel laboratorio y que no se transfieren adecuadamente en términos de velocidades de degradación a experimentos realizados a escala piloto o de campo ya que, en muchos de los casos, se obtienen mejores resultados en experimentos realizados a mayor escala que a pequeña escala, debido a la dificultad para generar las condiciones auténticas de compostaje en pequeños recipientes de laboratorio (EPA, 1998).



## 2.- ANTECEDENTES

---

La capacidad de los hongos para degradar los materiales lignocelulósicos se debe a su muy eficiente maquinaria enzimática. Los hongos tienen un sistema enzimático extracelular; que produce enzimas responsables de la degradación de polisacáridos y de la oxidación de la lignina (Pérez *et al.*, 2002). Los residuos lignocelulósicos de madera, hierba, desechos agrícolas, forestales y los residuos sólidos municipales, son particularmente abundantes en la naturaleza y tienen una posibilidad de bioconversión. Así, la acumulación, en grandes cantidades, de los materiales lignocelulósicos en lugares donde presentan un problema de eliminación como lo son los tiraderos a cielo abierto, representan la pérdida de material que bien se puede aprovechar incluyéndolo en un proceso de compostaje (Pérez *et al.*, 2002).

La materia orgánica y el humus son esencialmente importantes si se quiere conservar los suelos para asegurar la sobrevivencia de la población y una alternativa de solución es añadiendo composta y reciclando nutrientes y minerales mediante el proceso de compostaje, ya que es una de las mejores llaves para combatir enfermedades en los cultivos, porque la composta da cuerpo a los suelos arenosos y ligeros y, mejora el drenaje en los suelos arcillosos (Duan *et al.*, 2006). Las estrategias de biorremediación por compostaje, se basan en la adición y mezclado de los componentes primarios de una composta (agentes de volumen) con el suelo contaminado, de manera que, conforme la composta madura, los contaminantes son degradados por la microbiota activa dentro de la mezcla (Friedrich *et al.*, 2002).

### **2.1 Desechos sólidos urbanos**

Los residuos o desechos sólidos se definen como el material, producto o subproducto que, sin ser considerado peligroso, se desecha, mismo que es susceptible de reaprovecharse o requiere sujetarse a métodos de tratamiento o disposición final (SEMARNAT-CECADESU, 2004). En los últimos años las naciones del mundo industrializado han cuadruplicado su producción de

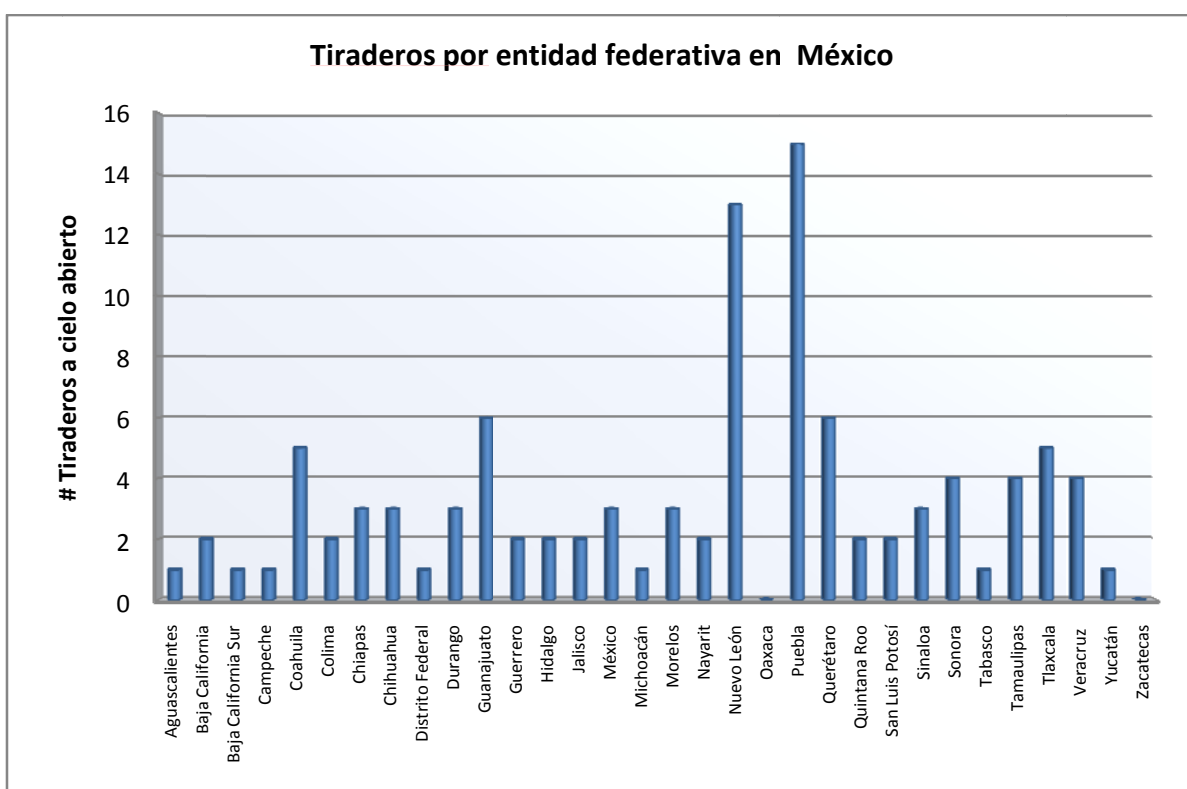
desechos domésticos, incrementándose esta cifra en 2 ó 3 % por año (Ten Have y Teunissen, 2001). El volumen de producción de desechos es inversamente proporcional al nivel de desarrollo del país que se trate. Diariamente consumimos y tiramos a la basura gran cantidad de productos de corta duración, desde el periódico hasta el cartón. Se estima que los envases de los productos representan el 40% de la basura doméstica, siendo desfavorables para el medio ambiente y, además, encarecen el producto (Ten Have y Teunissen, 2001). También, los contaminantes generados durante la quema de basura tienen consecuencias sobre la salud humana y en general, provocan efectos sobre los seres vivos y los ecosistemas. La acumulación de desechos sólidos urbanos es causa de muchas enfermedades, porque en ella se multiplican microbios y plagas que afectan a la población en general (Hammel, 2007).

Para nuestro país la deposición de desechos está regulada por la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. Desde la SEMARNAT (entidad responsable de las acciones de protección al medio ambiente en nuestro país) se puso en marcha la campaña “Por un México Limpio” que incluyó una agenda de acciones y propuestas las cuales no se cumplieron debido a la mala cultura de los mexicanos (Atlas y Bartha, 2002). El fenómeno de la mala disposición de los desechos sólidos es un problema ambiental de considerable importancia para la población de todas las comunidades ya que las formas de disposición de residuos sólidos van desde el depósito al aire libre, la incineración, la recuperación de subproductos hasta los tiraderos a cielo abierto (Hammel, 2007). En México, si bien, el servicio de recolección de basura cubre la mayor parte de la demanda de las ciudades, la disposición y manejo de esos desechos se vuelve una problemática de consideración por los grandes volúmenes que se manejan. Los datos al respecto son muy dispersos por lo que no se tiene una idea clara de la dimensión real de la problemática (Gutiérrez, 2006).

Actualmente, se vive en una sociedad de consumo en la que los residuos que generamos se han convertido en un grave problema para el medio ambiente, debido a que estamos inmersos en la cultura de usar y tirar. Los residuos sólidos domésticos usualmente son concentrados por los habitantes de la vivienda en un

solo recipiente, el cual, es descargado a un solo camión recolector, que los transporta a un solo sitio de disposición final, donde, en el mejor de los casos, se logra separar a algunos de esos residuos para reciclarlos o reusarlos. El problema está creciendo, ya que la generación de residuos per-cápita está aumentando, hasta superar un kilogramo por habitante/día en las grandes ciudades. Por otro lado, no existen suficientes sitios que puedan albergar con seguridad esos residuos. Producto de una mala gestión de residuos junto con una falta de conciencia ciudadana, se producen problemas como la acumulación de residuos industriales no tóxicos en tiraderos a cielo abierto.

En México actualmente existen 103 tiraderos a cielo abierto distribuidos por todo el país; estos tiraderos, sólo durante el 2007, captaron 3,705,846.21 toneladas de residuos industriales generados a nivel nacional (INEGI, 2008), (ver figura 2).



**Figura 2. Tiraderos a cielo abierto por entidad federativa en la República Mexicana. Fuente: INEGI 2008. Subdirección de Asistencia Técnica a Organismos Operadores Urbanos Regionales.**

## Tlaxcala.

El Estado de Tlaxcala se localiza geográficamente en la región centro-oriental de la República Mexicana situado en las tierras altas del eje neovolcánico, sobre la meseta de Anáhuac, colinda con los estados de Hidalgo y Puebla y Hidalgo, es el estado del país con menor superficie (4 060.93 kilómetros cuadrados de superficie), con sólo el 0.2 % del territorio nacional (INEGI, 2008). El área geográfica de mayor interés para este trabajo se sitúa en los Municipios de Apizaco y Alzayanca, el primero porque es el sitio donde se ubican las empresas proveedoras de desechos industriales no tóxicos y el segundo por ser el posible municipio ejecutor del proceso de compostaje y receptor de la composta para aplicación en suelos de vocación agrícola (Figura 3).



**Figura 3. Ubicación del Municipio de Alzayanca en el estado de Tlaxcala.**

## Situación estatal de tiraderos a cielo abierto.

De acuerdo con el INEGI, en el estado de Tlaxcala se reportan 5 tiraderos a cielo abierto que captan residuos sólidos de 550 empresas que tienen una generación estimada de 52, 275.40 toneladas anuales. Estos rellenos se encuentran distribuidos en el estado, en las localidades de Huamantla, Nanacamilpa, Panotla, Tetla y Villa Vicente Guerrero.

**Cuadro 1. Superficie de los tiraderos a cielo abierto, generación de residuos sólidos y vehículos recolectores por distrito de control. 2006**

DISTRITO DE CONTROL	SUPERFICIE DE LOS RELLENOS SANITARIOS (Hectáreas)	CAPACIDAD DISPONIBLE DE LOS RELLENOS SANITARIOS (Metros cúbicos)	GENERACIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS (Toneladas diarias)	VEHÍCULOS DE MOTOR RECOLECTORES
<b>ESTADO</b>	<b>100.0</b>	<b>13,252,371</b> c/	<b>1,536</b>	<b>181</b>
HUAMANTLA d/	7.5	454,550	142	15
NANACAMILPA e/	7.2	165,000	103	20
PANOTLA f/	68.6	11,550,260	811	78
TETLA g/	15.0	1,082,561	384	46
VILLA VICENTE GUERRERO h/	1.7	ND	96	22

### Modificado del informe 2007 de la Coordinación General de Ecología del Gobierno del Estado. Dirección de Operaciones. Unidad de Control de Residuos Sólidos.

En el estado de Tlaxcala, la generación de residuos está dividida en residuos industriales, lodos, residuos biológico-infecciosos, aceites, solventes y otros. En el cuadro 2 se muestran los datos para algunos municipios de interés.

## **Cuadro 2. Residuos peligrosos captados y tratados de control federal en algunos municipios de interés y por tipo de residuo 2006**

MUNICIPIO	INDUS-TRIALES (Kilogramos)	LODOS (Kilogramos)	BIOLÓGICO-INFECCIOSO (Kilogramos)	OTROS (Kilogramos)	ACEITES Y SOLVENTES (Litros)
<b>ESTADO</b>	<b>2,798,985</b>	<b>1,298,770</b>	<b>541,257</b>	<b>478,570</b>	<b>89,936</b>
ALTZAYANCA	0	150	0	0	0
APIZACO	626,613	801,904	15,001	101,434	16,670
ATLANGATEPEC	0	0	0	80	0
CUAPIAXTLA	0	150	111	180	0
CHIAUTEMPAN	2,126	0	19,312	470	0
HUAMANTLA	65,486	17,746	18,669	16,222	1,240
NATÍVITAS	0	0	177	0	0
PANOTLA	0	0	19	0	0
PAPALOTLA DE XICOHTÉNCATL	7,867	0	613	2,433	6,700
TLAXCALA	168,298	292,289	76,145	27,636	1,432
TLAXCO	803	0	2,581	0	200

**Modificado de Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Delegación en el Estado. Subdelegación de Gestión para la Protección Ambiental y Recursos Naturales. El tratamiento de los residuos peligrosos se canaliza a los procesos de confinamiento, reciclaje, otros hornos y oxidación térmica o incineración.**

Los Residuos Industriales se refieren a las estopas, trapos, cartones impregnados con grasa y aceites, todas las bolsas y envases que contengan sustancias riesgosas al ambiente y los residuos de la producción que contengan sustancias tóxicas al ambiente.

Dentro de los lodos se consideran los lodos de tratamiento, los productos de la regeneración de aceites, los provenientes de las operaciones del desengrasado del equipo de control y de tratamiento de aguas residuales.

Los Residuos Peligros Biológico-Infeciosos son los no anatómicos, los punzo-cortantes, patológicos, cultivos y cepas y sangre (SEMARNAT, 2004).

El de otros comprende los materiales de desecho de la producción, los fondos de destilación, pinturas, limpiadores y los residuos en el manejo de fibra de asbesto (SEMARNAT, 2004).

## **2.2 Desechos no tóxicos**

Los desechos son desperdicios o sobrantes de las actividades humanas y se clasifican en gases, líquidos y sólidos; y, por su origen, en orgánicos e inorgánicos. Estos desechos tienen varias posibilidades de encauzamiento: arrojar la basura en vertederos (solución económica pero peligrosa); incinerarla (costosa pero también contaminante); o separarla en plantas de tratamiento para reciclar una parte y convertir en abono los residuos orgánicos. Esta es una solución mucho más ecológica, pero también más costosa (Fenn *et al.*, 2006).

## **2.3 Materia orgánica**

Está formada principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, se puede transformar en energía utilizable mediante la degradación, fundamentalmente microbiana en el medio ambiente (García *et al.*, 2000). Mejora las condiciones físicas, químicas y biológicas de los suelos, los suaviza; permite una aireación adecuada; aumenta la porosidad y la infiltración de agua, entre otros. Es una fuente importante de nutrientes, a través de los procesos de descomposición con la participación de bacterias y hongos, especialmente, absorbe nutrientes disponibles, los fija y los pone a disposición de las plantas, especialmente al nitrógeno ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_4$ ), fósforo ( $\text{P}_0_4$ ) calcio (Ca), magnesio (Mg), potasio (K) y sodio (Na), mantiene la vida de los organismos del suelo, esenciales para los procesos de renovación de los recursos (Martínez *et al.*, 2005)

## **2.4 Aguas residuales**

Son la basura líquida proveniente de tocadores, baños, regaderas, cocinas, industrias y comercios, así como las aguas superficiales de los techos o áreas estancadas. Las aguas residuales municipales incluyen descargas residenciales, comerciales e industriales, y pueden incluir la salida de fuertes precipitaciones. También se les llama aguas negras, aguas servidas, aguas fecales, o aguas cloacales y son conducidas por el alcantarillado (Houot, 2001).

El tratamiento biológico de las aguas residuales se basa en el proceso, aparentemente simple, en el que una población mixta de microorganismos utiliza como nutrientes sustancias que contaminan el agua. Este es el mecanismo por el cual las corrientes de aguas naturales, como los lagos y los ríos se autopurifican. El uso de técnicas de la ingeniería química, se ha intensificado y acelerado para suministrar sistemas biológicos de tratamiento de uso común en la purificación a gran escala de las aguas residuales, domésticas e industriales. Las aguas residuales que contienen solutos contaminantes se ponen en contacto con una densa población de microorganismos apropiados, durante un tiempo suficiente que permita a los microbios descomponer y eliminar, según se desee, los solutos contaminantes (Houot, 2001).

## **2.5 Lodos**

Los lodos se definen como una mezcla que contiene una fase sólida suspendida en un medio líquido, dependiendo de las operaciones y procesos de tratamiento, la fase sólida será del 12-25% del peso total. Los lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales son producto de la concentración de sólidos contenidos en el efluente (lodos primarios) o de la formación de nuevos sólidos suspendidos (lodos activados) resultantes de la remoción de sólidos disueltos de las aguas residuales. En la mayoría de los casos los lodos industriales son vertidos en el medio ambiente sin algún tratamiento previo (Cabrera *et al.*, 2005).

A causa de las características físicoquímicas de los procesos de depuración de aguas residuales, los lodos tienden a acumular una serie de metales y compuestos orgánicos. Esta acumulación es una ventaja cuando se considera la calidad del agua residual tratada, pero hace que la calidad del lodo dependa, fundamentalmente, de algunos grupos de contaminantes. Así, los lodos contienen cantidades apreciables de nitrógeno (N) y fósforo (P), el nitrógeno puede estar en una de sus cuatro formas: orgánico,  $\text{NH}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$ . Las últimas tres formas están disponibles para que las plantas las usen como nutrientes, mientras que los microorganismos de la rizósfera deberán convertir



el nitrógeno orgánico a una de sus formas inorgánicas antes de poder introducirlo en su metabolismo (Cabrera *et al.*, 2005).

Aproximadamente el 80% de todo el nitrógeno contenido en los lodos se encuentra disponible para las plantas. En ocasiones resulta delicado que en el medio ambiente exista eutrofización por la abundancia de nutrientes y que no se alcancen a aprovechar, entonces se filtran hacia las aguas subterráneas y superficiales, sin embargo, se pueden considerar como fertilizantes valiosos. Al igual que las aguas residuales los lodos contienen bacterias, virus, protozoarios, parásitos y otros microorganismos, algunos de ellos son benéficos, mientras que otros son patógenos (John *et al.*, 2006).

### 3. JUSTIFICACIÓN

---

Existen desechos no tóxicos que se generan en la industria, particularmente, este estudio se evocó a residuos celulósicos de proceso de una empresa papelera y lodos de planta de tratamiento de aguas de una empresa refresquera, que, al igual que la mayoría de los desechos industriales no tóxicos, son depositados en basureros municipales. Esta acción significa costos para la empresa por traslado y confinamiento. Además, este método de eliminación no sólo acentúa el deterioro del medio ambiente, sino también el desaprovechamiento de materiales valiosos que se pueden utilizar incluyéndolos en un proceso de compostaje junto con residuos agrícolas o desechos domésticos, siempre y cuando se encuentren presentes y se generen las condiciones adecuadas para que los microorganismos responsables de la descomposición de la materia orgánica los convierta en material aprovechable. La práctica mejorada del proceso de compostaje, por la inclusión de lodos industriales no tóxicos y la bioaugmentación con cepas que presenten potencial para la biodegradación de compuestos presentes en los residuos orgánicos o industriales, puede ayudar a que este proceso antiguo y muy estudiado se convierta en una opción real de manejo de residuos sólidos orgánicos e industriales ya que un punto limitante para su aplicación a gran escala es el período de tiempo en que se efectúa la descomposición completa de la materia orgánica, misma que, dependiendo de los sustratos y condiciones de compostaje que va de 3 a 6 meses. A largo plazo, este trabajo sienta las bases que permitirán no sólo atacar el problema de tratamiento de residuos, sino que indirectamente puede beneficiar a los ecosistemas dañados por erosión, actividad agrícola intensiva o tala inmoderada de bosques.

## **4.- OBJETIVO GENERAL**

---

Evaluar el potencial de cepas microbianas para favorecer el proceso de compostaje que incluye en su composición desechos sólidos orgánicos y lodos de planta de tratamiento de aguas.

### **4.1 OBJETIVOS PARTICULARES**

---

1. Aislar cepas microbianas, con potencial de degradación de compuestos presentes en desechos sólidos, a partir de suelo de bosque y de composta doméstica para aplicarlos en proceso de compostaje.
2. Evaluar el efecto de la inoculación de cepas microbianas con capacidad degradadora en ensayos de compostaje a nivel invernadero.
3. Ensayar la fitotoxicidad de las diferentes mezclas de composta en ensayos a nivel de invernadero.

## 5.- MATERIALES Y MÉTODOS

---

### 5.1 *Toma de muestra de:*

#### ✓ **Suelos**

El muestreo de suelos se llevó a cabo en el bosque de González Ortega, Municipio de Saltillo La Fragua, del Estado de Puebla (Fig. 4), para la toma de muestra, se eligieron 3 áreas con las siguientes características: suelo oscuro con gran cantidad de hojarasca y con restos de madera. De cada una de las áreas, se extrajeron muestras de aproximadamente 1 Kg, que se fueron depositando en una bolsa de plástico para al final obtener una mezcla compuesta y homogénea.

#### ✓ **Composta doméstica**

Para la muestra de composta doméstica, se tomaron aproximadamente 2 Kg de una mezcla homogénea de material de composta y poda seca.

### 5.2 *Aislamiento microbiano*

Se tomaron 10 g de la mezcla de suelo de bosque, se depositaron en un frasco de 100 mL con tapón de rosca, se le agregaron 90 ml de H<sub>2</sub>O estéril, se agitaron en el vortex durante 5 minutos, se hicieron diluciones decimales con agua estéril hasta 10<sup>-5</sup>. Las últimas 3 diluciones se sembraron en placa Petri, en 4 diferentes medios (TY, LB, DPM y PDA, ver anexo). Se sembró por el método de dispersión. Los cultivos se incubaron a tres diferentes temperaturas y por diferentes periodos de tiempo:

Cultivos incubados a 22 °C, durante 1 mes

Cultivos incubados a 30 °C, durante 15 días

Cultivos incubados a 37 °C, durante 7 días



**Fig. 4. Mapa del lugar de donde se obtuvo el suelo de bosque para aislamiento microbiano. González Ortega, La Fragua, Puebla.**

### **5.3 Propagación microbiana**

Los hongos fueron propagados en medio PDA y las bacterias en medio TY, LB y DPM. Partiendo de la composición original de los medios, se sustituyeron las fuentes de carbono y nitrógeno por los desechos industriales no tóxicos en estudio. Los lodos fueron previamente desmoronados de forma manual, para de esta forma iniciar la propagación microbiana bajo presión de selección. Durante este proceso, se mantuvieron cajas testigo, con la misma composición, pero variaron al utilizar lodos sometidos a esterilización en autoclave durante 45 min a 121 °C.

#### 5.4 Ensayos de compostaje en invernadero

Se montaron ensayos de compostaje utilizando mezclas de igual proporción pero inoculados con diferentes hongos aislados de suelo de bosque y de composta. Se designó a este ensayo como Experimento "A". En la tabla 1 se resume la composición de las mezclas. Desde el inicio del proceso, cada una de las mezclas fue inoculada con los diferentes hongos, aislados de composta o de suelo de bosque, con la finalidad de acelerar el proceso de maduración de la composta.

El primer ensayo de fitotoxicidad y desarrollo vegetal se efectuó sembrando frijol y maíz, este ensayo se llevó a cabo en 20 macetas (Tabla 9 para frijol y Tabla 10 para maíz) que contenían mezclas que incluían desechos industriales no tóxicos y que fueron montadas en invernadero. La primera siembra se hizo a los 30 días de iniciado el proceso de compostaje, para evaluar la maduración de la composta.

**Tabla 1.- Composición de mezclas de compostaje a nivel invernadero (Experimento "A")**

Mezcla No.	Clave de identificación	Hongos aislados de:	Lodo (1)	Lodo (2)	Basura orgánica	Hojarasca	Suelo de Altzayanca
1	H1B	Bosque	5 Kg	1 Kg	½ Kg	½ Kg	3 Kg
2	H2B	Bosque	5 Kg	1 Kg	½ Kg	½ Kg	3 Kg
3	H3C	Composta	5 Kg	1 Kg	½ Kg	½ Kg	3 Kg
4	H4C	Composta	5 Kg	1 Kg	½ Kg	½ Kg	3 Kg
<b>Testigo</b>	-	-	5 Kg	1 Kg	½ Kg	½ Kg	3 Kg

Una vez hechas las mezclas, se tomaron mediciones de pH y temperatura cada semana, durante el transcurso del experimento y cada 15 días se homogenizó la mezcla.

Por otro lado, y para evaluar el efecto del tiempo de la inoculación, también, se montó un ensayo de compostaje en el que las mezclas fueron inoculadas 120 días después del inicio del proceso. Este fue designado como Experimento “B” y la mezcla de composición se muestra en la tabla 2.

**Tabla 2.- Composición de mezclas de compostaje a nivel invernadero (Experimento “B”)**

No. Mezcla	Clave de identificación	Hongos aislados de:	Lodo (1)	Lodo (2)	Basura orgánica	Hojarasca	Suelo de Altzayanca
5	H2B	Bosque	2.5 Kg	1 Kg	1.5 Kg	1.5 Kg	3.5 Kg
6	H5B	Bosque	2.5 Kg	1 Kg	1.5 Kg	1.5 Kg	3.5 Kg
7	H3C	Composta	2.5 Kg	1 Kg	1.5 Kg	1.5 Kg	3.5 Kg
8	H1B	Bosque	2.5 Kg	1 Kg	1.5 Kg	1.5 Kg	3.5 Kg
<b>Testigo</b>	-	-	2.5 Kg	1 Kg	1.5 Kg	1.5 Kg	3.5 Kg

Las mezclas de las tablas 1 y 2, fueron inoculadas con la biomasa obtenida tras el cultivo masivo de hongos en medio de cultivo suplementado con los lodos industriales en estudio (Tabla 3).

**Tabla No 3. Biomasa de hongos utilizada para la inoculación de mezclas de compostaje en ensayos de invernadero.**

<b>Mezcla No.</b>	<b>Inoculada con la cepa</b>	<b>g de biomasa inoculados en las mezclas</b>
1	H1B	220 g
2	H2C	132 g
3	H3C	184 g
4	H4C	196 g
5	H2B	178 g
6	H5B	152 g
7	H3C	220 g
8	H1B	144 g

Los parámetros que se cuidaron y monitorearon durante y después de la inoculación de las mezclas fueron: nivel de humedad, pH que se midió con papel indicador y, temperatura principalmente.

### ***5.5 Ensayos de fitotoxicidad de las diferentes mezclas en frijol, maíz y lechuga.***

#### **✓ Evaluación de madurez de las compostas con semillas de frijol**

Se tomaron 40 semillas de frijol negro comercial que fueron sometidas a 3 lavados con 50 mL de agua estéril, para posteriormente sembrarlas en macetas que contenían mezclas de los experimentos “A” y “B”. En cada maceta se sembraron 4 semillas, tres en forma de triángulo y 1 al centro. Las macetas se regaban cada tercer día o cada vez que era necesario de acuerdo a su nivel de humedad.



### ✓ **Evaluación de madurez de las compostas con semillas de maíz**

De una mazorca de los cultivos circunvecinos al CIBA-IPN Tlaxcala, se obtuvieron 40 semillas para llevar a cabo el mismo procedimiento de siembra que el frijol, de igual forma, las macetas se regaban cada tercer día o cada vez que era necesario de acuerdo a su nivel de humedad.

Los ensayos de siembra de frijol se llevaron a cabo en dos tiempos: a los 30 y 120 días de haberse iniciado el proceso de compostaje. Para el caso del maíz, los ensayos se llevaron a cabo en tres tiempos diferentes: a los 30, 120 y 150 días de iniciado el proceso de compostaje.

Todas las macetas se mantuvieron en invernadero a temperaturas que iban desde los 11 °C hasta los 33 °C. Para cada maceta, se registró día de germinación y número de semillas germinadas.

### ✓ **Evaluación de madurez de las compostas con semillas de lechuga**

A 150 días de haberse montado los ensayos de compostaje en invernadero, se tomaron muestras de los experimentos "A" (5 mezclas) y "B" (5 mezclas), se pusieron a secar en invernadero, se molieron en mortero y, posteriormente, se pusieron a secar en estufa a 50 °C, hasta que alcanzaran peso constante. Los ensayos de fitotoxicidad se llevaron a cabo con las 10 mezclas de los experimentos "A" y "B" y una muestra más que solo contenía agua estéril, que también funcionó como testigo. Esta determinación se basó en la técnica denominada "Madurez de las compostas" de Tiquia (2000), que a continuación se detalla.

Se tomó 2 g de cada material, se le agregaron 10 mL de agua destilada, se mantiene en agitación por 1 hora, se decanta y filtra con papel filtro. En cajas Petri colocar papel filtro y 10 semillas de lechuga certificada, adicionar 5 mL del extracto anterior. Hacer lo mismo con agua destilada, que será el testigo.

Repetir con las compostas experimentales ya maduras para comparación, repetir por duplicado. Mantener las cajas a 27 °C por 4 días y registrar germinación diariamente.

**Tasa de germinación relativa:** Se determinó el tiempo de germinación de las semillas cuando la germinación fue mayor al 50 %

Se midió porcentaje de germinación relativo (PGR), crecimiento de radícula relativo (CRR) e índice de germinación (IG), según metodología descrita por Tiquia (2000):

Nº de semillas germinadas en el extracto

$$\text{PGR} = \frac{\text{Nº de semillas germinadas en el extracto}}{\text{Nº de semillas germinadas en el testigo}} \times 100$$

Nº de semillas germinadas en el testigo

Elongación de radículas en el extracto

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

Elongación de radículas en el testigo

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

100

## 6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

### 6.1 Muestreo y aislamiento microbiano

Se obtuvieron 3 muestras de suelo, de tipo andosol, en el monte de González Ortega, La Fragua, Puebla., este tipo de suelo es característico de la región y predomina hasta en un 85%. Este lugar se localiza en la parte centro-este del estado de Puebla a 2860 msnm, la temperatura oscila entre los -3 °C y los 24°C dependiendo de la época del año. Se localiza en la parte centro-este del Estado de Puebla, sus coordenadas geográficas son los paralelos 19° 12' 00" y 19° 14' 18" de latitud norte y los meridianos 97° 14' 18" y 97° 22' 24" de longitud occidental (INEGI, 2008).

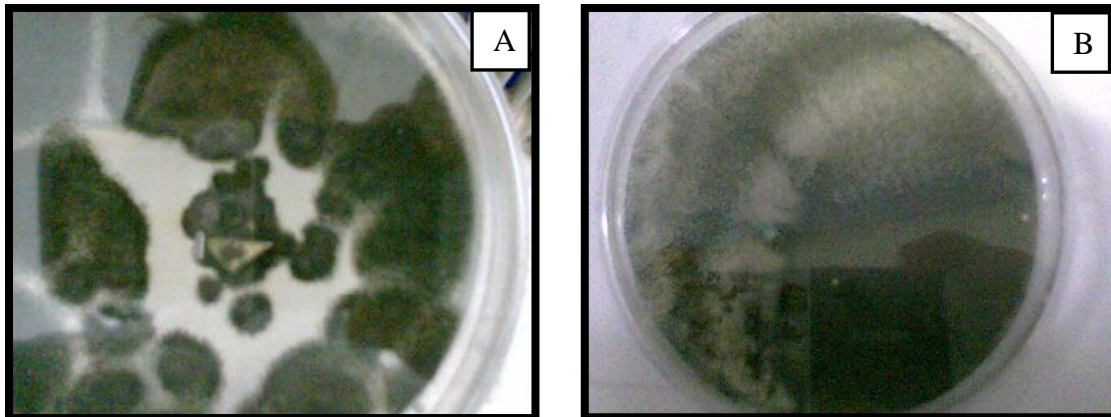
A partir de las 3 diferentes muestras de suelo de bosque de la localidad de González Ortega, Saltillo La Fragua, Puebla, se aislaron;

- 10 poblaciones bacterianas y
- 11 poblaciones fúngicas

Por otra parte, se obtuvieron 3 Kg aproximadamente de una composta doméstica y poda seca de un domicilio de la Ciudad de Tlaxcala. De donde se obtuvieron

- 11 poblaciones fúngicas.

Tras la purificación por resiembras consecutivas, se obtuvo un total de 22 cepas de hongos y 10 cepas bacterianas que fueron propagados en medio PDA (hongos) o TY, LB y DPM (bacterias). Se eligieron 7 hongos y 2 bacterias (Fig. 6) que presentaban mejor capacidad de crecimiento en medio PDA y TY (Tabla 3). La incubación de estos microorganismos se efectuó a tres diferentes temperaturas, 22, 30 y 37 °C.



**Figura 5. Crecimiento de hongos aislados de suelo de bosque (A) y composta doméstica (B)**

El hongo con clave de referencia H3C fue el que en todos los ensayos presentó mayor velocidad de crecimiento y propagación en medio PDA (figura 6). De acuerdo con reportes bibliográficos que señalan la importancia de la capacidad de degradación de los hongos (Finstein y Morris, 1975; Gilman, 1945, Domsca et. al., 1980), y a que estos mostraron mejor desarrollo y crecimiento en presencia de los desechos (lodos) industriales no tóxicos, se decidió enfocar los ensayos de mejora del proceso de compostaje únicamente con la inoculación de hongos.

### **Evaluación de crecimiento de microorganismos en diferentes medios de cultivo**

Los resultados mostraron que los hongos se propagaron y desarrollaron mejor al ser cultivados en medio PDA, incubándolos a 37 °C durante 7 días (Tabla 4).

Los resultados muestran que siempre se obtuvo un mayor nivel de crecimiento de hongos aislados de la composta doméstica que de los aislados del suelo de bosque, en medio PDA con sustitución de fuentes de carbono y nitrógeno. A partir de suelo de bosque y de composta doméstica, se logró aislar un total de 33 poblaciones microbianas, partir de las cuales se seleccionaron 5 cepas de hongos que mostraron potencial para la degradación de lodos industriales no tóxicos mediante el proceso de compostaje, los hongos que mejor crecieron

fueron los identificados como H1B, H2C, H3C, H4C y H5B, por lo que se optó por continuar trabajando sólo con estas 5 cepas y eliminar los otros 2 hongos y las 2 bacterias.

**Tabla 4.- Crecimiento de hongos y bacterias en diferentes medios de cultivo, expresado en cruces. Incubación a 37 °C, durante 7 días.**

Hongo/Bacteria	PDA	TY	LB	DPM
H1B	+++	+	+	++
H2B	+++	++	+	++
H3C	++++	++	+	++
H4C	++++	+	-	+
H5B	+++	+	-	-
H6B	++	+	+	-
H7C	++	+	-	-
B1C	-	++	++	-
B2C	+	+	+	-

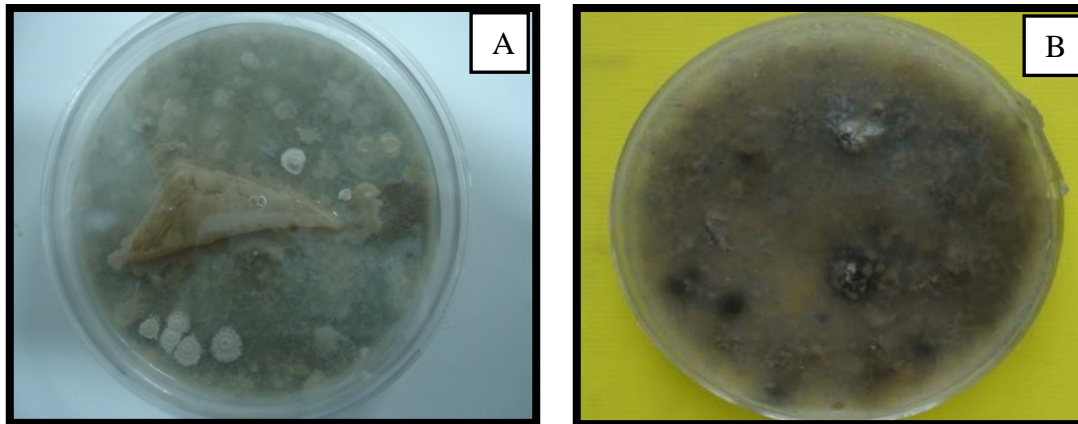
## **6.2 Propagación microbiana**

Considerando que durante el proceso de compostaje la temperatura se modifica importantemente e influye en el desarrollo de las poblaciones microbianas presentes (Atlas y Bartha, 2002), se evaluó el crecimiento de los hongos en estudio a 3 diferentes temperaturas: 22, 30 y 37 °C y en diferentes medios de cultivo. De las cajas Petri que contenían medio PDA con lodos industriales no tóxicos como sustituyentes de fuentes de carbono y de nitrógeno, incubadas a diferentes temperaturas, estas presentaron las siguientes características;

- Cultivo incubado a 22 °C, tuvieron abundante crecimiento a los 30 días
- Cultivo incubado a 30 °C, tuvieron abundante crecimiento a los 17 días
- Cultivo incubado a 37 °C, tuvieron abundante crecimiento a los 7 días

Los resultados muestran que la mejor temperatura de incubación para estos hongos fue a 37 °C durante 7 días. De igual forma, los resultados muestran que consistentemente se obtuvo mayor nivel de crecimiento de hongos aislados de composta doméstica que de suelo de bosque, en medio PDA con sustitución de fuentes de carbono y nitrógeno (desechos industriales no tóxicos), y que esta particularidad se da porque se supone que los microorganismos presentes en la composta doméstica ya estaban adaptados a la degradación de polisacáridos y celulosa, presente en su hábitat original.

Las cajas Petri que contenían medio PDA con sustituyentes de fuentes de carbono (figura 6), lodos industriales no tóxicos esterilizados en autoclave (considerado testigo), presentaron crecimiento mínimo (Tabla 3), lo que hace suponer que las condiciones alcanzadas durante el proceso de esterilización afectan los factores que favorecen el desarrollo de los microorganismos de interés. Ello, debido a las modificaciones que parte de los sustratos pudieron sufrir al ser sometidos a alta temperatura (121°C y presión). Ya sea por que se acomplejaron o porque se transformaron a formas no biodegradables por los microorganismos en estudio.



**Figura 6. Cajas Petri con medio PDA y sustituyentes de fuente de C y N, para "A", lodos industriales no tóxicos, sin esterilizar y para "B", lodos industriales no tóxicos esterilizados.**

### ***6.3 Ensayos de compostaje en invernadero***

Tras la preparación de las mezclas (ver tabla 1 y 2), que fueron inoculadas con diferentes cantidades de biomasa obtenida tras el cultivo masivo de hongos en medio de cultivo suplementado con los lodos industriales en estudio (Tabla 4), los parámetros que se cuidaron y monitorearon durante y después de la inoculación de las mezclas fueron:

- ✓ **Nivel de humedad:** Los resultados mostraron que las mezclas que fueron inoculadas desde el inicio del compostaje siempre mostraron un mayor nivel de humedad.
- ✓ **pH:** Éste se registró quincenalmente, los resultados se muestran a continuación en la tabla 5.
- ✓ El registro de la **temperatura** se hacía semanalmente, en la figura 7 y 8 se muestran las temperaturas alcanzadas durante el proceso de compostaje en las mezclas mantenidas en condiciones de invernadero alcanzaban una temperatura de hasta los 38°C.

**Tabla 5.- pH de las mezclas durante el proceso**

<b>pH durante el proceso de compostaje</b>			
<b>Experimento "A"</b>			
<b>Mezcla</b>	<b>29 días</b>	<b>115 días</b>	<b>142 días</b>
<b>1</b>	5.5	6	6.5
<b>2</b>	5.5	6	6.5
<b>3</b>	5.5	6.5	6.5
<b>4</b>	6	6.5	6.5
<b>T "A"</b>	8	7.5	7

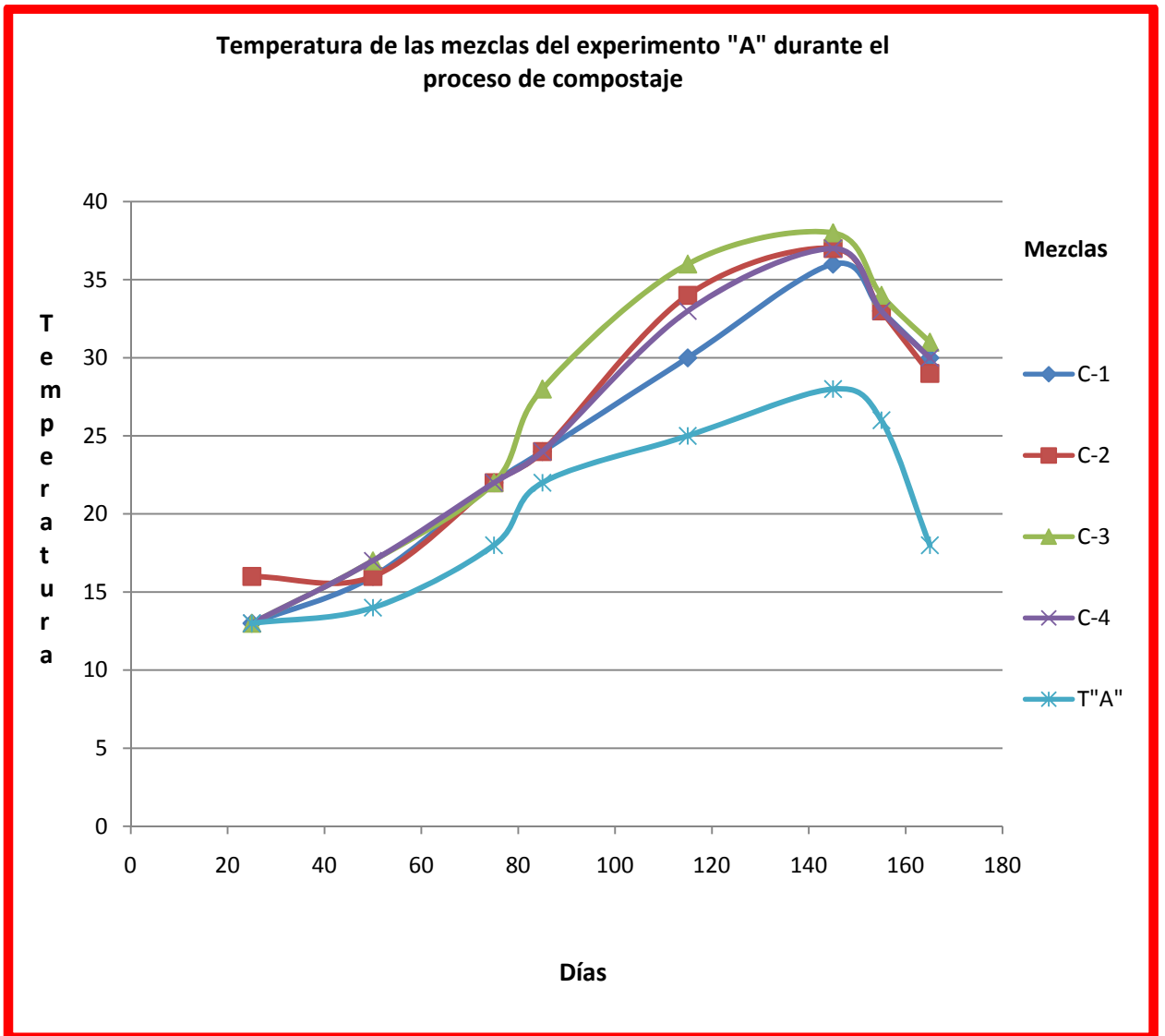
<b>Experimento "B"</b>				
<b>Mezcla</b>	<b>29 días</b>	<b>85 días</b>	<b>115 días</b>	<b>142 días</b>
<b>5</b>	5.5	6	6.5	6.6
<b>6</b>	5.5	6	6.5	6.5
<b>7</b>	5.5	6	6	7
<b>8</b>	5.5	6	6	6,5
<b>T "B"</b>	8	7.5	7.5	7

El pH fue uno de los parámetros utilizados para estimar la calidad del proceso de compostaje. De acuerdo con lo sugerido por Homma et. al. (2007), el intervalo de valores de pH debe ser desde 6 hasta 8.5 para garantizar la compatibilidad con la mayoría de las plantas. En los ensayos de los experimentos "A" y "B", los valores de pH se llegaron a presentar por debajo del límite inferior recomendable, pero nunca rebasaron el límite de alcalinidad sugerido por dichos autores. Los cambios de pH que se presentaron durante el proceso de compostaje pueden obedecer a la mineralización de nitrógeno y fósforo en nitritos, nitratos, etc. que se dan al inicio del proceso de compostaje. Lorenzati et, al. (2007) sugieren que el límite máximo de tolerancia de las plantas debe ser del 40% de mineralización de la materia orgánica, lo que se corroboró en los resultados del presente trabajo en que, sin medir grado de mineralización, se observó indirectamente por la transformación y degradación de la materia orgánica y demás componentes presentes en la mezcla de compostaje.



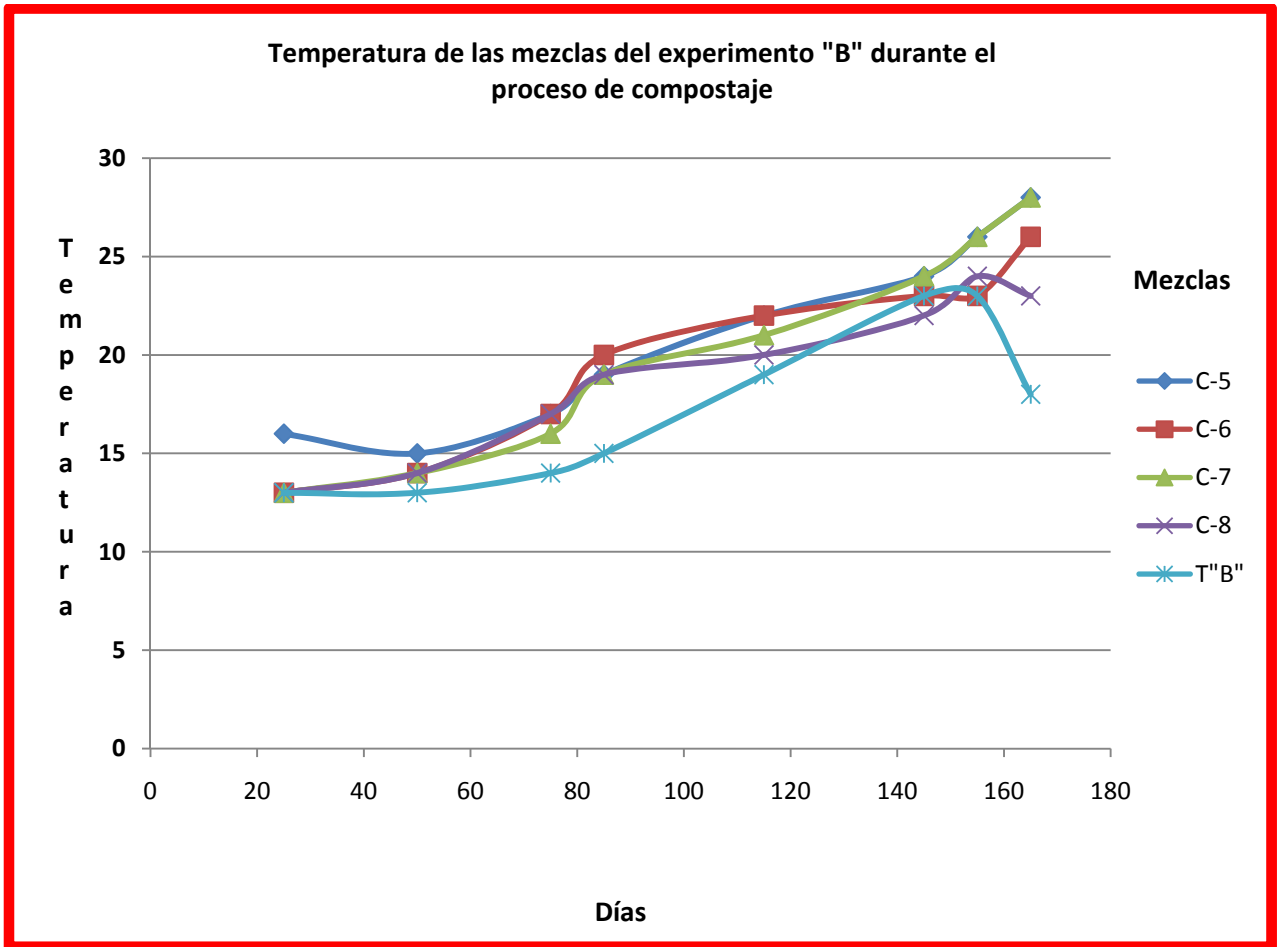
En contraparte, el registro de temperaturas se efectuó semanalmente en un horario de 10:00 a 11:00 hrs o de 16:00 a 17:00 hrs. La temperatura tuvo un intervalo de diferencia considerable comparado con las muestras testigo (Figuras 7 y 8).

**Figura 7.- Temperatura de las mezclas durante el proceso de compostaje (experimento "A")**



En la figura 7 podemos observar claramente que la temperatura alcanzada por las primeras 4 mezclas que fueron inoculadas desde el inicio del proceso, fue mucho mayor que la mezcla testigo.

**Figura 8.- Temperatura de las mezclas durante el proceso de compostaje (experimento "B")**



Los resultados muestran que los testigos nunca rebasaron los 28 °C, factor que probablemente limitó la madurez de las mezclas. El valor máximo de temperatura alcanzado fue de 38 °C, en la mezcla 3, a los 145 días del proceso, el incremento de temperatura es resultado de la actividad microbiana, por lo que bajo estas circunstancias es atribuible a las poblaciones inoculadas. La temperatura y la humedad fueron determinantes en el proceso de compostaje porque el ensayo se montó en el mes de septiembre y fue hasta noviembre en que la temperatura se elevó y no hubo necesidad de agregar agua a cada una de las mezclas porque el calor generado provocó "sudoración" ayudando a que las mezclas se mantuvieran siempre con la humedad necesaria para que los microorganismos llevaran a cabo adecuadamente el proceso de degradación.

Llama la atención que en la literatura se reportan temperaturas de hasta 60°C, sin embargo, debe recordarse que en condiciones de invernadero es muy difícil alcanzar altas temperaturas, que se presentan en condiciones de campo, ello por el volumen de las pilas de compostaje y cantidad de materiales (Francou, 2003).

Las características físicas de los experimentos “A” y “B” a lo largo del proceso de compostaje, se dan a conocer en las tablas 6, 7, 8, 9 y 10. Igualmente, se describen las diferencias en apariencia física entre las mezclas que fueron inoculadas con aislados de bosque y de composta.

**Tabla No. 6 Características físicas de las mezclas de los experimentos “A” y “B” a 30 días de compostaje.**

Mezcla No.	Inoculada con la cepa	Agregados visibles	Textura	Color	Humedad	Olor
1	H1B	Sí	Áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable
2	H2C	Sí	Blanda y áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable
3	H3C	Sí	Blanda y áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable
4	H4C	Sí	Blanda y áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable
T “A”	-	Sí	Dura y áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable
5	H2B	Sí	Dura y áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable
6	H5B	Sí	Dura y áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable
7	H3C	Sí	Dura y áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable
8	H1B	Sí	Dura y áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable
T “B”	-	Sí	Dura y áspera	Gris oscuro	Suficiente	Desagradable

A 30 días de iniciado el proceso de compostaje, las 4 primeras mezclas del experimento “A”, tenían una consistencia poco más manejable y una menor visión de los agregados que el del resto de las mezclas y esto se supone que se debió a que esas mezclas fueron inoculadas desde el inicio del proceso de compostaje, factor que aceleró el la descomposición del material y que, mientras la materia orgánica se descomponía, esta provocaba mayor nivel de humedad.

A este tiempo, la temperatura varío solo en las mezclas 2 y 5 (16 °C), el resto se mantuvo en 13 °C, es decir todavía no existía una diferencia significativa.

**Tabla No. 7 Características físicas de las mezclas de los experimentos “A” y “B” a 60 días de compostaje.**

Mezcla No.	Inoculada con la cepa	Agregados visibles	Textura	Color	Humedad	Olor
1	H1B	Sí	Blanda y áspera	Gris cenizo	Suficiente	Desagradable
2	H2C	Sí	Blanda y áspera	Gris cenizo	Suficiente	Desagradable
3	H3C	Sí	Blanda y áspera	Gris cenizo	Suficiente	Desagradable
4	H4C	Sí	Blanda y áspera	Gris cenizo	Suficiente	Desagradable
T “A”	-	Sí	Dura	Gris oscuro	Poca	Desagradable
5	H2B	Sí	Áspera	Gris oscuro	Poca	Desagradable
6	H5B	Sí	Áspera	Gris oscuro	Poca	Desagradable
7	H3C	Sí	Áspera	Gris oscuro	Poca	Desagradable
8	H1B	Sí	Áspera	Gris oscuro	Poca	Desagradable
T “B”	-	Sí	Dura	Gris oscuro	Poca	Desagradable

A 60 días de maduración de las mezclas, las del experimento “A” empezaban a tener una marcada diferencia en la textura que fue blanda pero áspera, en el color empieza a ser homogéneo y en que siguen teniendo la humedad suficiente, todo esto a diferencia de la mezcla testigo que seguía muy dura y que el tamaño de los agregados eran visibles. El resto de las mezclas (experimento “B”) continuaban con la misma coloración, olor y con menos humedad que las primeras 4 mezclas. En cuanto a la temperatura, a este tiempo de compostaje las 4 primeras mezclas ya habían alcanzado los 17 °C y el resto de las mezclas todavía no rebasaba los 15 °C.

**Tabla No. 7 Características físicas de las mezclas de los experimentos “A” y “B” a 90 días de compostaje.**

Mezcla No.	Inoculada con la cepa	Agregados visibles	Textura	Color	Humedad	Olor
1	H1B	Mínimo	Blanda	Gris claro	Suficiente	Poco menos desagradable
2	H2C	Mínimo	Blanda	Gris claro	Suficiente	Poco menos desagradable
3	H3C	Mínimo	Blanda	Gris claro	Suficiente	Poco menos desagradable
4	H4C	Mínimo	Blanda	Gris claro	Suficiente	Poco menos desagradable
T “A”	-	Sí	Dura	Gris cenizo	Poca	Desagradable
5	H2B	Regular	Áspera	Gris cenizo	Poca	Desagradable
6	H5B	Regular	Áspera	Gris cenizo	Poca	Desagradable
7	H3C	Regular	Áspera	Gris cenizo	Poca	Desagradable
8	H1B	Regular	Áspera	Gris cenizo	Poca	Desagradable
T “B”	-	Sí	Dura	Gris oscuro	Poca	Desagradable

A 90 días del proceso de compostaje, las primeras 4 mezclas ya tenían una gran diferencia con el resto de las mezclas, principalmente, el mal olor empezaba a desaparecer y la temperatura se elevaba a 28 °C, además de que se mantuvo un buen nivel de humedad, mientras, el resto de las mezclas apenas rebasaba los 20 °C y su nivel de humedad era mucho menor.

A 90 días, las mezclas C-5, C-6, C-7 Y C-8 la apariencia física de cada uno de sus componentes era muy visible, y entonces se entendía que el proceso de maduración de cada mezcla iba muy lento, por lo que se optó por inocular las mezclas para acelerar su grado de madurez.

**Tabla No. 9 Características físicas de las mezclas de los experimentos “A” y “B” a 120 días de compostaje.**

Mezcla No.	Inoculada con la cepa	Agregados visibles	Textura	Color	Humedad	Olor
1	H1B	No	Blanda	Gris claro	Suficiente	Casi nulo
2	H2C	No	Blanda	Gris claro	Suficiente	Casi nulo
3	H3C	No	Blanda	Gris claro	Suficiente	Nulo
4	H4C	No	Blanda	Gris claro	Suficiente	Nulo
T “A”	-	Regular	Áspera	Gris cenizo	Suficiente	Poco menos desagradable
5	H2B	Regular	Áspera	Gris cenizo	Poca	Poco menos desagradable
6	H5B	Regular	Áspera	Gris cenizo	Poca	Poco menos desagradable
7	H3C	Regular	Áspera	Gris cenizo	Suficiente	Poco menos desagradable
8	H1B	Si	Dura	Gris oscuro	Poca	Poco menos desagradable
T “B”	-	Si	Dura	Gris oscuro	Poca	Desagradable

A 120 días de maduración de las mezclas que fueron inoculadas desde un inicio (experimento “A”), estas presentaron una mejor apariencia física que las mezclas testigo. De igual forma, las mezclas que fueron inoculadas a los 90 días de haberse iniciado el proceso (experimento “B”), y que tenían 30 días de haber sido inoculadas, éstas presentaron un cambio drástico favorable (Tabla 9). Así mismo, una vez que las mezclas del experimento “B” fueron inoculadas, la temperatura se elevó de 20 a 28 °C en 70 días. Si bien este incremento parece poco significativo, debe recordarse que la temperatura ambiente era de hasta 3 °C e incluso se presentaron heladas, por lo que en términos relativos, el incremento de temperatura si fue considerable.

**Tabla No. 10 Características físicas de las mezclas de los experimentos “A” y “B” a 150 días de compostaje.**

Mezcla No.	Inoculada con la cepa	Agregados visibles	Textura	Color	Humedad	Olor
1	H1B	No	Blanda	Gris claro	Suficiente	Nulo
2	H2C	No	Blanda	Gris claro	Suficiente	Nulo
3	H3C	No	Blanda	Gris claro	Suficiente	Nulo
4	H4C	No	Blanda	Gris claro	Suficiente	Nulo
T “A”	-	Mínimo	Blanda y áspera	Gris cenizo	Suficiente	Mínimo
5	H2B	Mínimo	Blanda y áspera	Gris cenizo	Suficiente	Casi nulo
6	H5B	Mínimo	Blanda y áspera	Gris cenizo	Suficiente	Casi nulo
7	H3C	Mínimo	Blanda y áspera	Gris cenizo	Suficiente	Casi nulo
8	H1B	Mínimo	Blanda y áspera	Gris cenizo	Suficiente	Casi nulo
T “B”	-	Regular	Blanda y áspera	Gris cenizo	Poca	Poco desagradable

A 150 días de maduración de las mezclas, las primeras 4 mezclas presentaban una apariencia física homogénea y el mal olor desapareció completamente, su grado de humedad era un poco menor que hace 30 días pero todavía era aceptable, la temperatura ya había alcanzado los 38 °C. La mezcla testigo y las del experimento “B” también tenían un avance significativo, su coloración era mucho más clara y su mal olor iba desapareciendo, la temperatura aún no rebasaba los 25 °C.

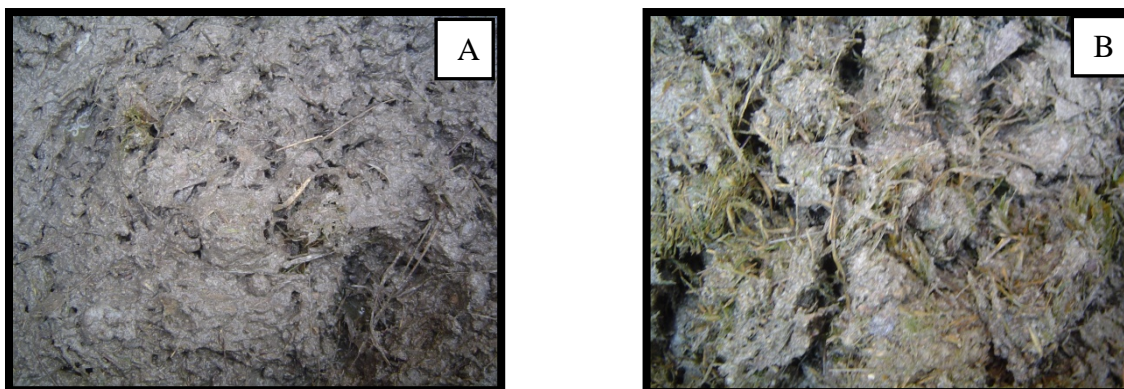
Durante el proceso se observó que la mezcla referenciada como 3 presentó mejores resultados a lo largo del proceso.

Los factores que permitieron que el buen proceso de compostaje se llevara a cabo en 150 días, fueron:



1. La inoculación de hongos permitió acelerar el tiempo de maduración de las compostas hasta en un 45% ya que brinda mejores condiciones al sustrato obtenido de acuerdo a los ensayos llevados a cabo (crecimiento vegetal en macetas en condiciones de invernadero, ver más adelante).
2. Las condiciones óptimas de propagación y de crecimiento de las cepas fúngicas para inoculación se dio en medio de cultivo PDA, incubando durante 7 días a una temperatura de 37 °C.

Los resultados mostraron que las mezclas del experimento "A", que fueron inoculadas desde el inicio del proceso, a 100 días de maduración, por las mañanas presentaban una capa superficial de color verde, que cambió a beige a los 120 días y que, poco a poco, fue desapareciendo. Esto se asoció a que la mezcla alcanzó la etapa de madurez, ya que todo indicaba que la actividad microbiana había descendido lo que hacía pensar en que se alcanzó la etapa de maduración según ha sido descrita por Francou (2003). Las compostas inoculadas con las cepas H3C, H4C y H5B, que fueron aisladas de la composta doméstica presentaron, por apariencia, mayor nivel de degradación que las que fueron inoculadas con los aislados de suelo de bosque. Haciendo una comparación física aparente entre las compostas inoculadas y los testigos a 120 días de iniciado el proceso, se nota claramente que las compostas que fueron inoculadas tuvieron un color más uniforme, el tamaño de los agregados fue cada vez más pequeño, el olor desagradable fue casi nulo (figura 9).



**Figura 9. Composta No. 3, inoculada con la cepa H3C (A) y composta testigo (B), ambas del experimento "A".**

Los microorganismos capaces de degradar la celulosa producen una serie de enzimas con diferentes especificidades y todos ellos trabajan juntos. Las celulasas son las responsables de la hidrólisis de celulosa y se componen de una mezcla compleja de enzimas específicas para llevar a cabo este trabajo (Goyal *et. al.* 1991 y Rabinovich, 2002b). Dado que los desechos industriales no tóxicos de la empresa papelera están constituidos fundamentalmente por material celulósico, la correcta aplicación de microorganismos los convierten en potencial fuente de carbono, que hasta ahora está siendo desaprovechada y representa una alternativa para su inclusión en un proceso de compostaje con la inoculación de microorganismos (hongos) que ayuden a su degradación.

Al inocular con cepas provenientes de una composta doméstica se observaron cambios importantes en las compostas, como la unificación del color de la mezcla, el tamaño de los agregados fue cada vez más uniforme y el mal olor disminuyó considerablemente, todo esto comparado con las mezclas que fueron inoculadas con cepas provenientes del suelo de bosque que tardaron hasta 30 días más en alcanzar las mismas características de las compostas inoculadas (Tablas 7 y 8) con cepas fúngicas aisladas de composta doméstica. Aún existió una diferencia más marcada con las compostas que no fueron inoculadas ya que para alcanzar características similares a las compostas anteriores tuvieron que pasar 70 días (tablas 7 y 10) y aún así no alcanzaron la misma apariencia física.

Una de las principales funciones de los hongos en los ecosistemas es la de participar en el reciclaje de la materia orgánica, esto debido a su forma de nutrición heterotrófica con liberación de enzimas y absorción de los elementos digeridos, función de primordial importancia en el mantenimiento de la fertilidad del suelo en los ecosistemas terrestres (Perea-Estarada, *et. al.* 2005). Así mismo, los organismos responsables de la degradación de la lignocelulosa son, fundamentalmente, los hongos del grupo de los basidiomicetos (Rabinovich *et al.*, 2002). Se considera que los basidiomicetos tienen capacidad para degradar la lignocelulosa y la celulosa de manera eficiente y que están asociados con un habitual crecimiento micelial que provoca la degradación de este material que constituye la principal fuente de carbono en el suelo (Hammel, 2007). Si bien no se efectuó la identificación de los hongos aislados en este trabajo, las características morfológicas de crecimiento micelial, coloración, tiempo de propagación y sobre todo el efecto de degradación observado en las mezclas de compostaje, permiten suponer que se trate de hongos del grupo de los basidiomicetos según Atlas y Bartha (2002).

#### ***6.4 Ensayos de fitotoxicidad y desarrollo vegetal sobre frijol y maíz.***

Los resultados mostraron que la germinación de semillas de frijol a 30 días, en presencia de mezclas correspondientes al experimento "A", tardó de 9 a 16 días. Así mismo, se muestra que del total de las semillas de frijol que se sembraron en el primer ensayo, sólo germinó el 2.75% (tabla 11) y esta baja tasa se explica dado que la mayoría de las mezclas todavía no alcanzaban la madurez, y no presentaban las características de textura y nutricionales donde las semillas lograran desarrollarse. Las semillas testigo brotaron a los 16 días y no logró desarrollarse la planta.

**Tabla No. 11 Siembra de frijol en mezclas después de 30 días de iniciado el proceso de compostaje.**

<b>Mezcla</b>	<b>Características de las plantas</b>				
	<b>No. Semillas germinadas</b>	<b>Turgencia de la planta</b>	<b>Color de la planta</b>	<b>Textura de la mezcla</b>	<b>Color de la mezcla</b>
<b>1</b>	0	-	-	Dura	Gris claro
<b>2</b>	1	Si	Verde	Dura	Gris claro
<b>3</b>	3	Si	Verde intenso	Dura	Gris claro
<b>4</b>	1	No	Verde	Dura	Gris claro
<b>T "A"</b>	1	No	Amarillenta	Dura	Gris oscuro
<b>5</b>	1	No	Amarillenta	Dura	Gris oscuro
<b>6</b>	2	No	Amarillenta	Dura	Gris oscuro
<b>7</b>	1	No	Amarillenta	Dura	Gris oscuro
<b>8</b>	1	No	Amarillenta	Dura	Gris oscuro
<b>T "B"</b>	0	-	-	Dura	Gris oscuro

Aunque las mezclas del experimento "A" sólo tenían 30 días de haber sido inoculadas, la maceta 3 que fue la que contenía mezcla inoculada con el H3C, fue la que presentó mejores resultados. Igualmente, los resultados mostraron que la germinación de semillas de maíz indicada en la tabla 9, se efectuó entre 6 y 9 días. La línea 3 en la tabla No. 9 corresponde a la mezcla inoculada con el hongo H3C, maceta en que se observó un mejor desarrollo vegetal.

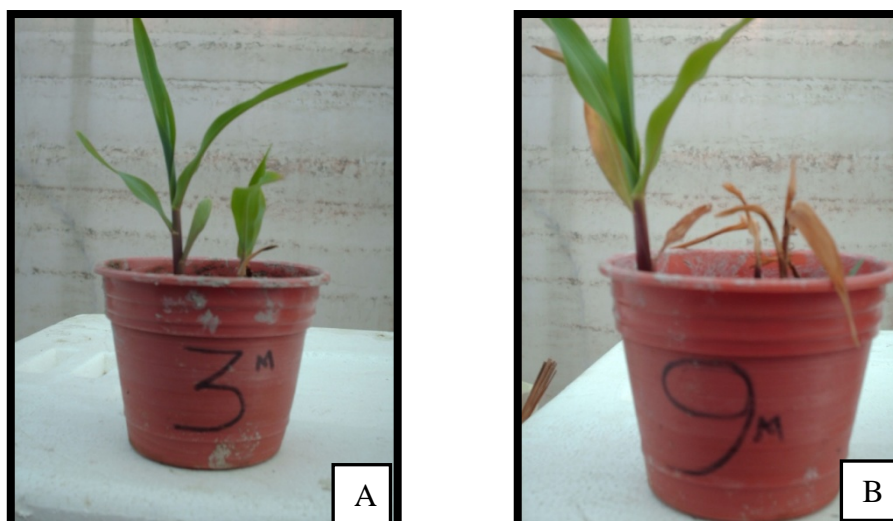
Del total de las semillas de maíz que se sembraron en el primer ensayo, germinó el 48% (tabla No. 12), un porcentaje muy superior al de la germinación de semilla de frijol. Debe hacerse notar que a pesar de utilizar semilla de frijol "nueva" según los proveedores comerciales, éstas mostraron un índice de germinación extremadamente bajo, lo que pudo sumarse a la dureza del sustrato que no facilitó la emergencia de la plántula en aquellas semillas que sí germinaron.

**Tabla No. 12 Siembra de maíz en mezclas después de 30 días de iniciado el proceso de compostaje.**

<b>Mezcla</b>	<b>Características de las plantas</b>				
	<b>No. Semillas germinadas</b>	<b>Turgencia de la planta</b>	<b>Color de la planta</b>	<b>Textura de la mezcla</b>	<b>Color de la mezcla</b>
<b>1</b>	2	No	Verde	Dura	Gris claro
<b>2</b>	2	Si	Verde	Dura	Gris claro
<b>3</b>	3	Si	Verde intenso	Dura	Gris claro
<b>4</b>	3	Si	Verde	Dura	Gris claro
<b>T "A"</b>	2	No	Verde	Dura	Gris oscuro
<b>5</b>	1	No	Verde	Dura	Gris oscuro
<b>6</b>	2	Si	Verde	Dura	Gris oscuro
<b>7</b>	2	Si	Verde	Dura	Gris oscuro
<b>8</b>	1	No	Verde	Dura	Gris oscuro
<b>T "B"</b>	1	No	Amarillenta	Dura	Gris oscuro

En la figura 9 se puede apreciar una clara diferencia del nivel de desarrollo vegetal entre la planta que se encontraba en la mezcla que fue inoculada con la cepa H3C y la muestra testigo, ambos del experimento "A". Sin embargo, las plantas del experimento "B", tenían una apariencia muy similar a la planta testigo antes mencionada.

Es necesario hacer notar que las macetas de la figura 10 se sembraron en el mes de noviembre, fecha en que las temperaturas estuvieron muy bajas (Temperatura promedio 5 °C), situación que pudo haber afectado su desarrollo. De igual forma, se observó que las compostas que contienen una mayor cantidad de lodo de la industria papelera, su consistencia fue más dura y que aún así la mayoría de las semillas brotaron.



**Figura 10. Plantas de maíz cultivadas en: (A) Mezcla 3, inoculada con la cepa H3C y (B), planta testigo, ambas del experimento "A".**

En la figura 10, podemos apreciar claramente que en la maceta 9 que fueron las plantas testigo, 2 de ellas murieron.

### **Siembra de frijol y maíz a 120 días de iniciado el proceso de compostaje**

Los resultados mostraron que la germinación de semillas de frijol del ensayo resumido en la tabla No. 13, tardó de 6 a 12 días. El porcentaje de germinación de semillas fue de 57.5 % y comparando con el primer ensayo, se pone de manifiesto una clara diferencia. Nótese que la maceta que contiene la mezcla que fue inoculada con el H3C (Fig. 10-A), fue una de las que presentó mejores resultados. El tiempo de germinación de semillas de maíz fue de 4 y 7 días, señal interpretada como resultado del buen proceso de compostaje.

**Tabla No. 13 Siembra de frijol en mezclas después de 120 días de iniciado el proceso de compostaje.**

<b>Mezcla</b>	<b>Características de las plantas</b>				
	<b>No. Semillas germinadas</b>	<b>Turgencia de la planta</b>	<b>Color de la planta</b>	<b>Textura de la mezcla</b>	<b>Color de la mezcla</b>
<b>1</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>2</b>	2	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>3</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>4</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>T "A"</b>	2	No	Verde	Dura	Gris oscuro
<b>5</b>	3	Si	Verde	Suave	Gris claro
<b>6</b>	3	Si	Verde	Suave	Gris claro
<b>7</b>	2	No	Verde intenso	Dura	Gris oscuro
<b>8</b>	1	No	Verde	Dura	Gris oscuro
<b>T "B"</b>	1	No	Amarillenta	Dura	Gris oscuro

A 120 días de iniciado el proceso de compostaje, ya se tenía plantas de maíz en todas las macetas (tabla 14), pero el nivel de desarrollo no era el mismo, ya que las macetas de las primeras 4 mezclas tenían un mecho mejor desarrollo vegetal que el resto.

A 120 días de iniciado el proceso de compostaje, las plantas de las primera 4 mezclas, todas estaban muy verdes y derechas y las del resto de las macetas algunas estaban amarillas y otras ya hasta habían muerto.

**Tabla No. 14 Siembra de maíz después de 120 días de iniciado el proceso de compostaje.**

<b>Mezcla</b>	<b>Características de las plantas</b>				
	<b>No. Semillas germinadas</b>	<b>Turgencia de la planta</b>	<b>Color de la planta</b>	<b>Textura de la mezcla</b>	<b>Color de la mezcla</b>
<b>1</b>	2	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>2</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>3</b>	4	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>4</b>	4	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>T "A"</b>	3	No	Verde	Dura	Gris oscuro
<b>5</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>6</b>	4	Si	Verde	Suave	Gris claro
<b>7</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>8</b>	3	No	Verde	Suave	Gris claro
<b>T "B"</b>	3	No	Verde	Dura	Gris oscuro

En la figura 11 se puede apreciar una clara diferencia del nivel de desarrollo vegetal entre la planta que se encontraba en la mezcla que fue inoculada con la cepa H1B y las plantas testigo, donde una de sus plantas murió, ambas del experimento "A".





**Figura 11. Plantas de maíz cultivado en (A) mezcla 1, y (B) mezcla testigo, ambas del experimento “A”, a 120 días de iniciado el proceso de compostaje.**

El tercer ensayo se llevó a cabo en el mes de febrero, época en que en la región de Tlaxcala hiela, factor que no permite el adecuado desarrollo de las plantas, por lo que se optó por llevar a cabo el ensayo solo con semillas de maíz (Tabla 15).

### **Siembra de maíz a 150 días de iniciado el proceso de compostaje**

Durante este proceso y a 150 días del proceso de compostaje, las semillas probadas en mezclas de los ensayos “A” y “B”, tardaron de 4 a 6 días en germinar. En este ensayo, los avances fueron más significativos ya que la única maceta donde no germinaron las semillas fue en la muestra testigo del experimento “B” (tabla 15).

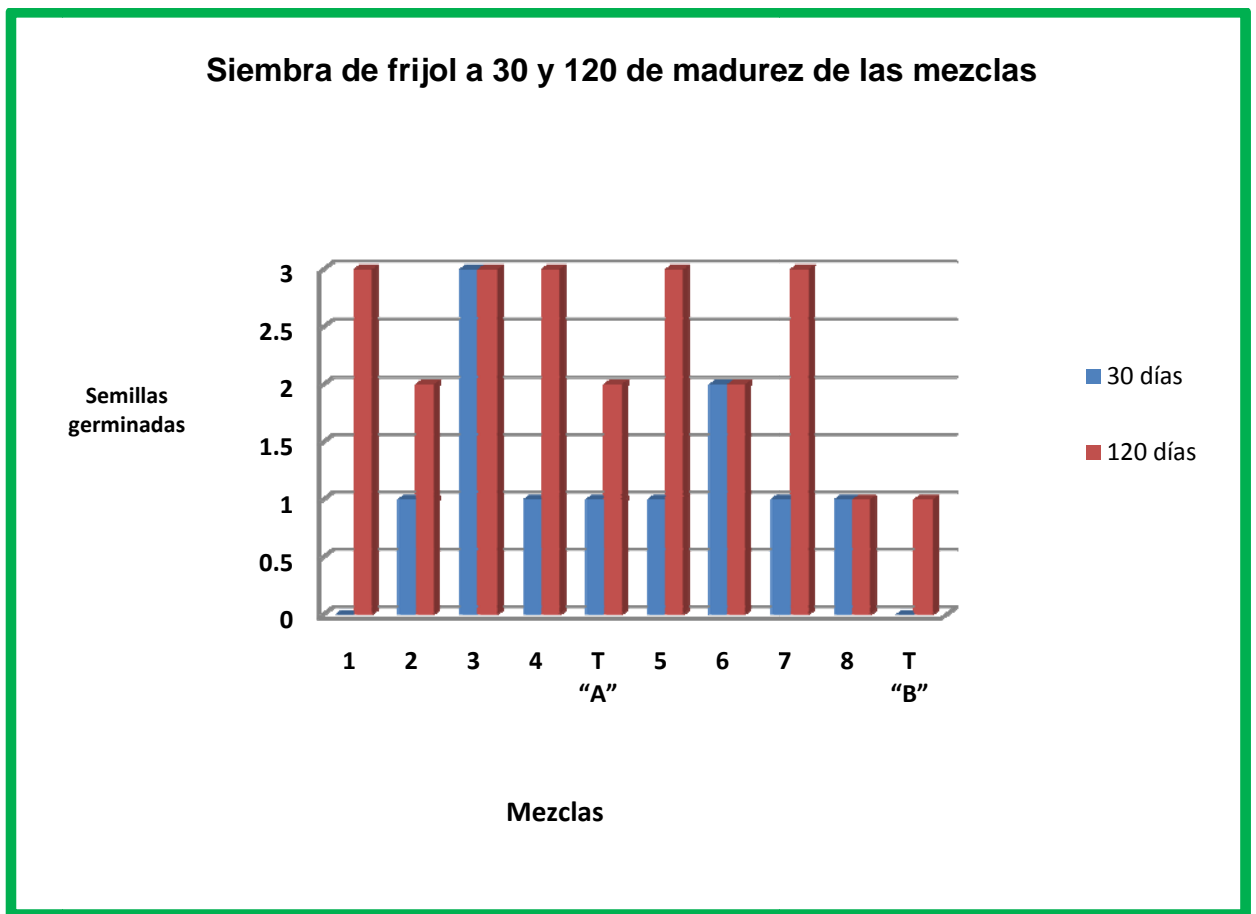
**Tabla No. 15. Siembra de maíz después de 150 días de iniciado el proceso de compostaje.**

<b>Mezcla</b>	<b>Características de las plantas</b>				
	<b>No. Semillas germinadas</b>	<b>Turgencia de la planta</b>	<b>Color de la planta</b>	<b>Textura de la mezcla</b>	<b>Color de la mezcla</b>
<b>1</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>2</b>	4	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>3</b>	4	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>4</b>	4	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>T "A"</b>	2	Si	Verde	Dura	Gris claro
<b>5</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>6</b>	4	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>7</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>8</b>	3	Si	Verde intenso	Suave	Gris claro
<b>T "B"</b>	3	No	Verde	Dura	Gris oscuro

Haciendo una comparación de germinación de semillas de frijol en los ensayos llevados a cabo con muestras de composta a 30 y 120 días en proceso de compostaje, es evidente el mejor desarrollo vegetal en las mezclas a 120 días de iniciado el proceso de compostaje (figura 12).

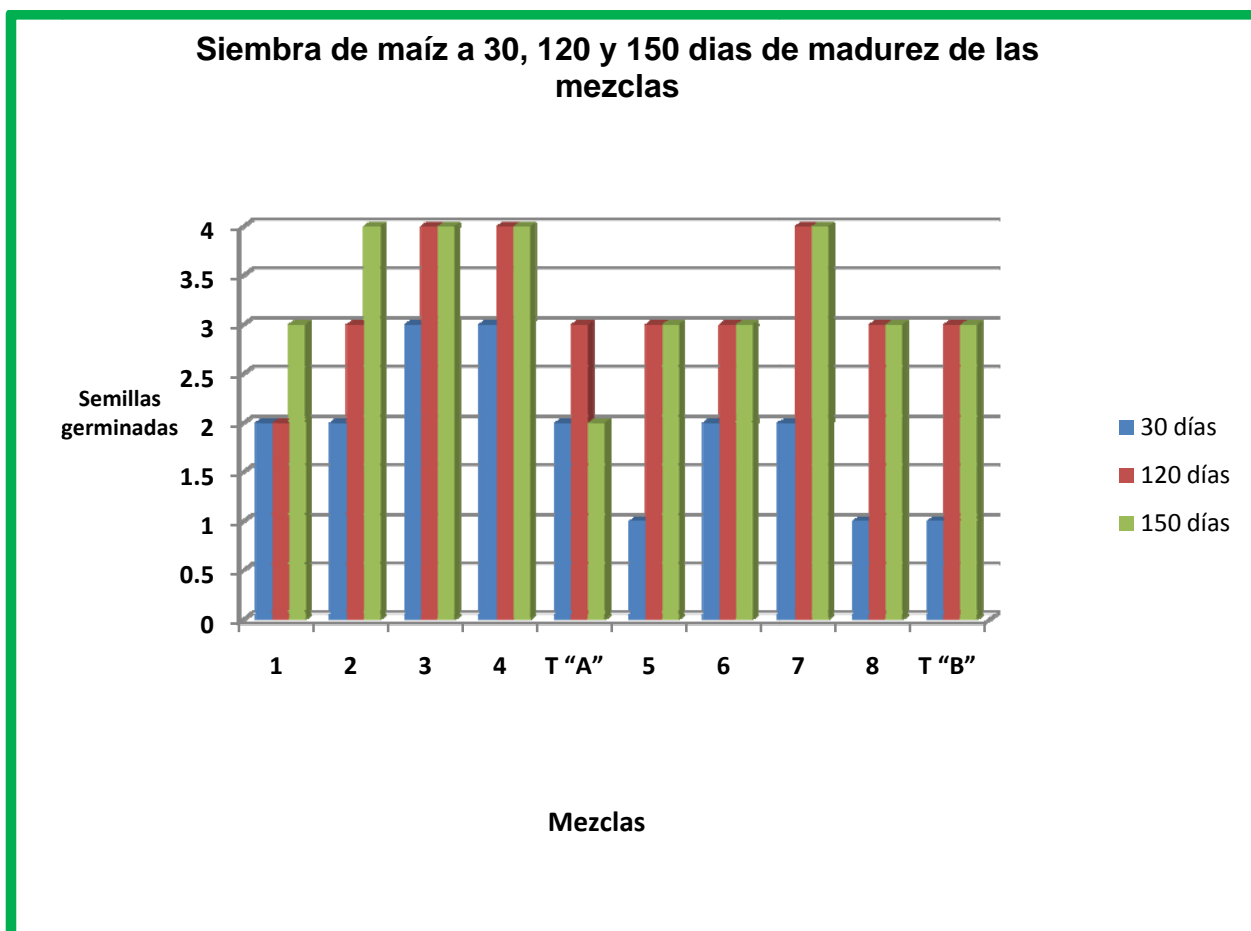
Igualmente, haciendo una comparación de germinación de semillas de maíz en los ensayos llevados a cabo a 30, 120 y 150 días de madurez de las mezclas, en la figura 13 se muestra la clara diferencia alcanzada en el desarrollo vegetal.

**Figura 12. Germinación de semillas de frijol en compostas de 30 y 120 días de madurez de las mezclas.**



Los resultados muestran que las semillas de maíz tuvieron un mayor porcentaje de germinación que las de frijol. Para poder descartar un posible efecto de fitotoxicidad de alguno(s) de los componentes de los lodos o derivados del proceso de compostaje, se llevó a cabo el ensayo de fitotoxicidad de las compostas en semillas de lechuga.

**Figura 13. Germinación de semillas de maíz en compostas de 30, 120 y 150 días de madurez de las mezclas.**



## 6.5 Evaluación de fitotoxicidad de compostas experimentales

Mediante el método "Madurez de la composta" de Tiquia (2002) se llevó a cabo el ensayo de fitotoxicidad de las mezclas con semilla certificada de lechuga marca Happy Flower, como se detalló en la sección de materiales y métodos. Por lo que se obtuvieron extractos de las diferentes mezclas ensayadas en los experimentos "A" y "B".

Las semillas de lechuga que se regaron con los extractos de las primeras 4 mezclas (experimento "A"), fueron turgentes, tuvieron un color verde y raíces con pelos radicales abundantes. En tanto que las semillas de lechuga que se regaron con los extractos de las mezclas, 5, 6, 7 y 8 (ensayo "B"), también

tuvieron pelos radiculares abundantes pero una coloración menos intensa que las que fueron regadas con los extractos del experimento "A". Las semillas de lechuga que se regaron con Testigo "A" y Testigo "B" presentaron menor crecimiento, al igual que menor desarrollo de los pelos radiculares. Mientras que las plántulas que sólo se regaron con agua estéril, tuvieron un crecimiento mínimo, se observaban de color amarillo, y presentaban una mala apariencia general comparada con las anteriores.

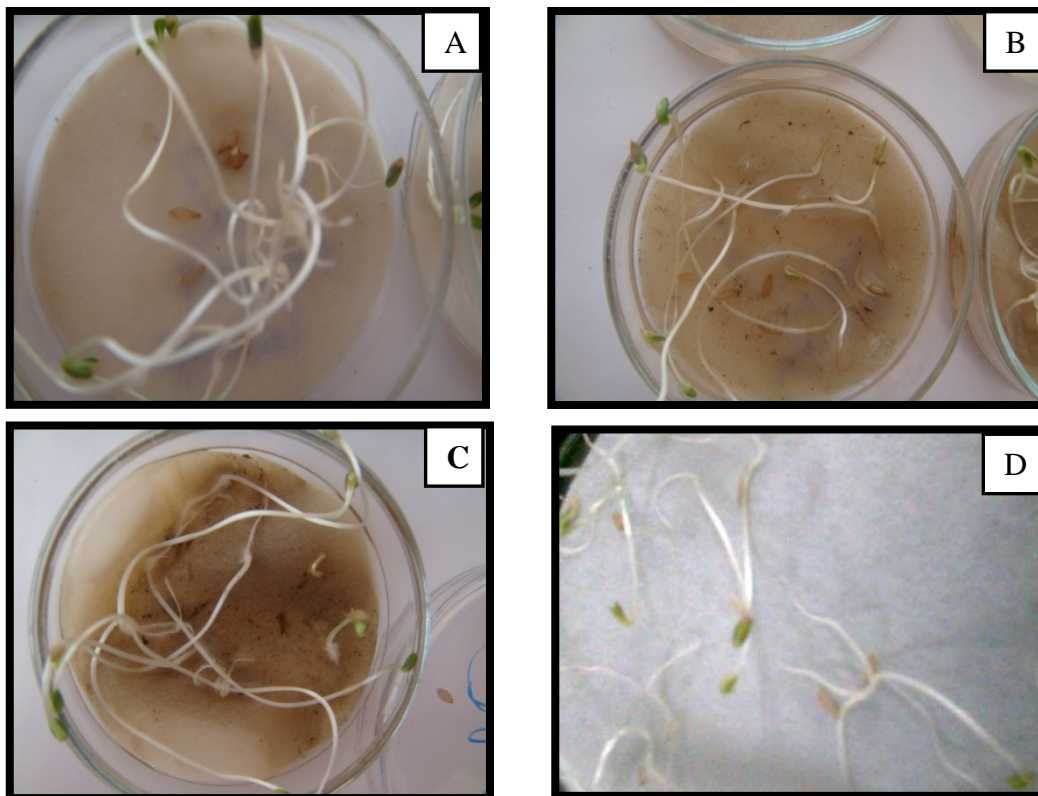
Los tiempos de germinación, el Porcentaje de Germinación Relativo, Crecimiento de Radícula Relativo e índice de germinación se detallan en la tabla 16. En la figura 14 se puede observar la diferencia en términos de desarrollo vegetal de las plántulas que fueron regadas con los diferentes extractos.

**Tabla 16. Ensayos de fitotoxicidad de las compostas**

Composición	Inoculada con la cepa	% de germinación	Días de germinación	PGR	CRR	IG
1	H1B	90	3	90	72.41	65.17
2	H2B	80	3	80	132.7	106.2
3	H3C	100	2	100	143.1	143.1
4	H4C	90	3	90	106	95.43
T "A"	-	70	4	70	97.41	68.18
5	H2B	100	2	90	131.8	131.8
6	H5B	100	2	100	125.8	125.8
7	H3C	90	3	100	74.13	66.72
8	H1B	100	3	90	112.9	101.6
T "B"	-	90	4	90	85.34	85.34
Control	-	100	4	100	73.25	76.81

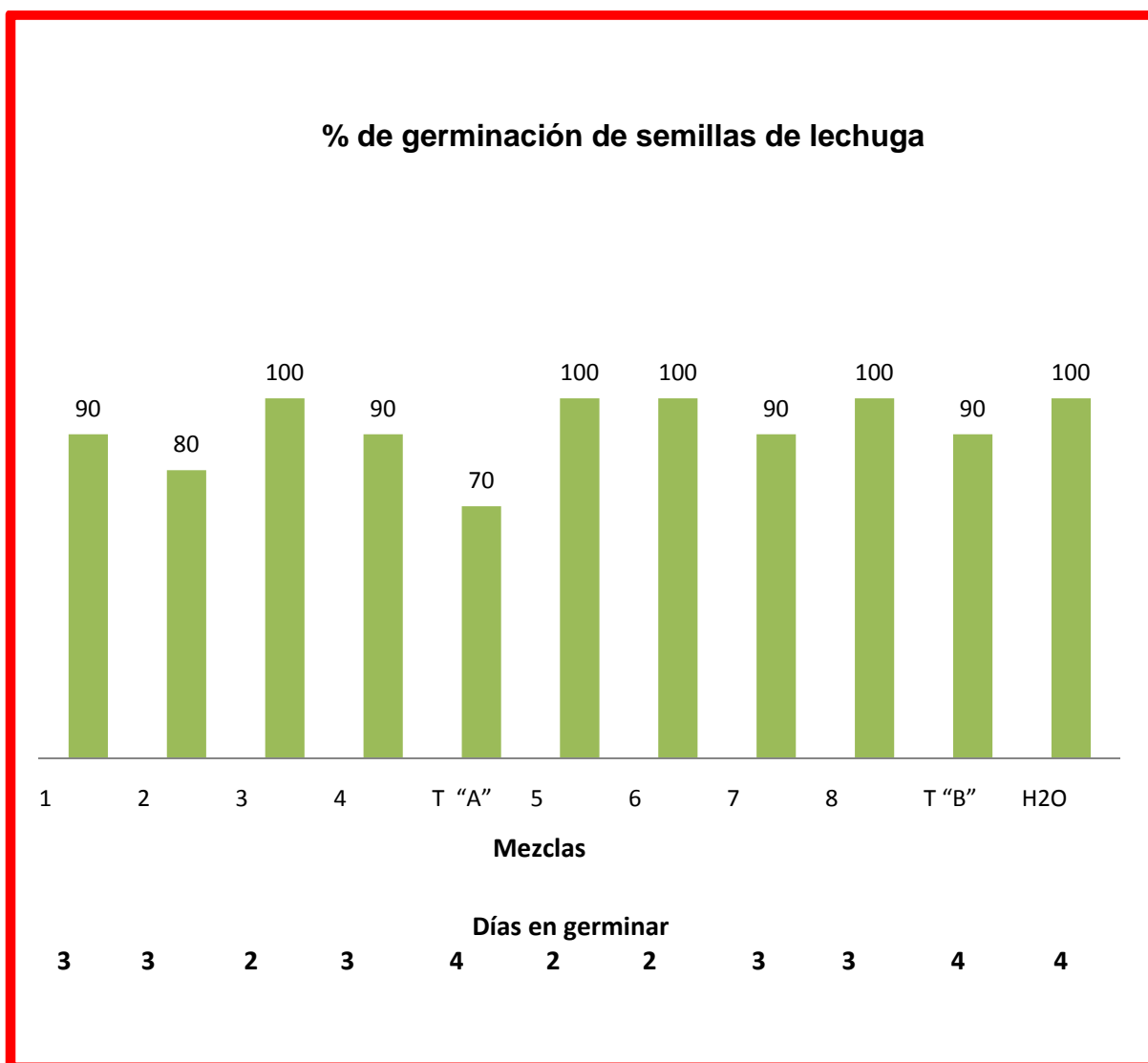
PGR: Porcentaje de Germinación Relativo  
 CRR: Crecimiento de Radícula Relativo  
 IG: Índice de Germinación

Los resultados mostraron que en las cajas que contenían las muestras testigo y control (agua destilada), germinaron el 100% de las semillas (figura 15), pero su apariencia fue siempre amarillenta y fueron las que menos crecieron, tanto la plántula como su raíz. Sin embargo, el resto de las plántulas, tuvo una apariencia turgente. Igualmente, en la figura 14-A se puede apreciar la coloración del extracto, es decir, que el fondo de la imagen, es mucho más claro que las B y C, señal de un buen proceso de degradación de los componentes de la mezcla.



**Figura 14. Plántulas de lechuga regadas con extractos de las mezclas de compostaje 3 (A), experimento "A"; mezcla 6 (B), experimento "B"; testigos: del experimento "B" (C) y con agua estéril.**

**Figura 15. % de germinación de semillas de lechuga en ensayo de fitotoxicidad.**



## 7.- CONCLUSIONES

---

A partir de suelo de bosque y de composta doméstica, se logró aislar un total de 32 poblaciones microbianas, partir de las cuales se seleccionaron 5 cepas de hongos que mostraron potencial para la degradación de lodos industriales no tóxicos mediante el proceso de compostaje.

De estas, resaltó por su potencial de degradación de componentes de la mezcla de compostaje la cepa con clave de referencia HC3, ya que mostró mayor capacidad de degradación y mejores resultados en ensayos de desarrollo vegetal y prueba de fitotoxicidad.

Se efectuaron diferentes ensayos de composición de mezclas, a nivel invernadero, para evaluar el efecto del contenido de lodos industriales no tóxicos y demás componentes texturizantes que intervienen en el proceso; encontrando que la presencia de lodos ricos en celulosa favoreció el mejor desarrollo vegetal al probar las compostas maduras con plántulas de frijol y maíz.

Se ensayaron dos tiempos de inoculación, al inicio del proceso y a los 90 días de haber iniciado el compostaje. De acuerdo a los resultados del ensayo de “madurez de las compostas”, podemos concluir que es preferible inocular al arranque del proceso de compostaje, pues el desarrollo vegetal se vio favorecido.

Los resultados de la prueba de fitotoxicidad, sobre semillas de lechuga, maíz y frijol, muestran que no hubo efectos negativos sobre la germinación de las mismas. Aunque si hubo diferencias en el desarrollo vegetal para las diferentes mezclas ensayadas. Por lo anterior, podemos concluir que la utilización de composta obtenida del proceso mejorado puede ser utilizada para mejorar la calidad nutricional y textura de suelos de uso agrícola, ello sólo a reserva de comprobar su inocuidad de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002. Sin embargo, la mezcla de composición 10:2:1:1:6 (Lodo1:Lodo2:Basura orgánica:hojarasca:suelo Altzayanca) inoculada con el hongo HC3, fue la que mejor favoreció el desarrollo vegetal.



## **8.- PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES**

---

Durante este trabajo se ensayo la mejora del proceso de compostaje, mismo que ha probado su eficiencia en el manejo y aprovechamiento de residuos sólidos a lo largo de la historia. Esta mejora se enfocó en dos sentidos, la inclusión de desechos industriales no tóxicos, provistos por una empresa papelera y una empresa refresquera del Estado de Tlaxcala, y la bioaumentación con cepas fúngicas para reducir el tiempo de maduración de las compostas. Para ello se probaron diferentes mezclas de compostaje en invernadero, sin embargo, es necesario llevar estos ensayos a nivel de parcela experimental en campo para tener la posibilidad de evaluar el proceso en condiciones reales. También debe demostrarse la inocuidad de las compostas obtenidas según recomendaciones de la NOM-004-SEMARNAT-2002, especialmente al considerar que la composta obtenida sea aplicada para la mejora de suelos con vocación agrícola o forestal.

En este ensayo nos enfocamos a la bioaumentación con cepas fúngicas, sin embargo, queda abierto el camino para el ensayo de otro tipo de microorganismos como puede ser del grupo de los actinomicetos, para los cuales se ha reportado importante actividad celulolítica y ligninolítica.

De manera similar, quedan sentadas las bases para ensayar la inclusión de otro tipo de lodos industriales no tóxicos que, dependiendo de su composición, requerirán ajustes en composición de mezcla o cepas de bioaumentación para poder ser tratados por el método de compostaje.

## 9.- ANEXOS

---

### MEDIOS DE CULTIVO

#### **Medio TY 1 L**

Triptona	5 g
Extracto de Levadura	3 g
Agar	12 g
Cloruro de calcio (CaCl <sub>2</sub> )	1.30g
H <sub>2</sub> O	1000 ml

#### **Medio Luria Bertani (LB) 1 L**

Extracto de levadura	5 g
Peptona de Caseina	10 g
Cloruro de Sodio (NaCl <sub>2</sub> )	5 g
Agar	13.5 g
H <sub>2</sub> O	1000 ml

#### **Medio DPM para bacterias 1 L**

Propionato de sodio	1.2 g
Mg SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.1 g
Microelementos	1 ml
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.01 g
Fe SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1.0 g
pH	6.5

**Medio mínimo sin fuente de carbono y sin fuente de  
nitrógeno para bacterias ( 1 L)**

Mg SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.1 g
Microelementos	1.0 ml
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.01 g
Fe SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1.0 g
pH	6.5

**Microelementos 1 Litro**

H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	4.0 μM
MnSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	6.0 μM
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.9 μM
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	1.0 μM
NaMoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.1 μM

## 10.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- 1.- **APHA**, 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20<sup>th</sup> ed. American Public Health Association/American Water Works Association/ Water Environment Federation, Washington, DC, USA.
- 2.- **Atlas**, R. M., y **Bartha**, R., 2002. *Ecología microbiana y Microbiología ambiental*. Pearson Educación, S. A., Madrid.
- 3.- **Beffa T.**, **M. Blanc**, **L. Marilley**, **J.L. Fischer**, **P.F.**, **Lyon** and **M. Aragno**. (1996). *Taxonomic and metabolic microbial diversity during composting*. In: *The Science of Composting*. De Bertoldy M., Bert P. and Tiziano P. London: Blackie Academic and Professional. pp. 149-161. U.K.
- 4.- **Blanchette R**, **Krueger E**, **Haight J**, **Akhtar M**, **Akin D.**, 1997. *Cell wall alterations in loblolly pine wood decayed by the white-rot fungus, Ceriporiopsis subvermispora*. J Biotechnol 53:203–13.
- 5.- **Cabrera**, M.L. **Kissel**, D.E., **Vigil**, M.F., 2005. *Nitrogen mineralization from organic residues: research opportunities*. Journal Environmental of Quality 34, 75-79.
- 5.- **Chung**, Y.C., 2007. *Evaluation of gas removal and bacterial community diversity in a biofilter developed to treat composting exhaust gases*. J. Hazard. Mater. 144,377–385.
- 6.- **Delfin Al**, **Duran de bazua C.**, 2003. *Biodegradacion de residuos urbanos lignocelulosicos por Pleurotus*. Revista Int Contaminación del Ambiente 19:37–45.
- 7.- **Díaz**, L. F., **Savage**, G. M., **Eggerth**, L. L., y **Goleuke**, C. C., 1993. *Composting and Recycling: Municipal Solid Waste*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- 8.- **Duan**, H., **Koe**, L.C.C., **Yan**, R., **Chen**, X., 2006. Biological treatment of H<sub>2</sub>S using pellet activated carbon as a carrier of microorganisms in a biofilter. Water Res. 40, 2629–2636.
- 9.- **EPA**, Environmental Protection Agency. 1998. *An analysis of composting as an environmental remediation technology*. EPA530-R-98-008.USA.
- 10.- **Epstein**, E., 1997. *The Science of Composting*. Technomic Publishing Company, Inc., Pennsylvania, USA.

- 11.- **Fenn, M.E., Perea-Estrada, V.M., de Bauer, L.I., Perez-Suarez, M., Parker, D.R., Cetina-Alcala, V.M., 2006.** *Nutrient status and plant growth effects of forest soils in the basin of Mexico.* Environ. Pollut. 140, 187e199.
- 12.- **Francou, C., 2003.** *Stabilisation de la matiere organique au cours du compostage de dechets urbains: Influence de la nature des déchets et du procédé de compostage - Recherche d'indicateurs pertinents.* Institut National Agronomique Paris-Grignon Ecole Doctorale Abies These Docteur.
- 13.- **Friedrich, U., Prior, K., Altendorf, K., Lipski, A., 2002.** *High bacterial diversity of a waste gas-degrading community in an industrial biofilter as shown by a 16S rDNA clone library.* Environ. Microbiol. 4, 721–734.
- 14.- **García, C., Hernández, T., Pascual, J., Moreno, J.L., Ros, M., 2000.** *Actividad microbiana en suelos del sureste español sometidos a procesos de degradación y desertificación. Estrategias para su rehabilitacion.* In: Garía, C., Hernández, M.T. (Eds.), *Investigación y Perspectivas de la Enzimología de Suelos en España.* Consejo Sup. Invest. Científicas (CSIC)-CEBAS, Murcia, Spain, pp. 43–92.
- 15.- **Goyal A, Ghosh B, Eveleig D., 1991.** *Characterization of fungal cellulases.* Bioresour Technol ;36:37–50.
- 16.- **Gutierrez A, Caramelo L, Prieto A, Martinez MJ, Martinez, 2006.** *AT. Anisaldehyde production and aryl-alcohol oxidase and dehydrogenase activities in ligninolytic fungi of the genus Pleurotus.* Appl Environ Microbiol. 1783–8.
- 17.- **Hammel KE, 2007.** *Fungal degradation of lignin.* In: Cadisch G, Giller KE, editors. *Plant litter quality and decomposition.* CAB-International; 1997. p. 33–46. bodies on buried soil Cryptomeria japonica) twigs. J Wood Sci 2007;53:80–4.
- 18.- **He, Y., Y. Inamori, M. Mizuochi, H. Kong, N. Iwami, y T. Sun. 2000.** *Measurments of N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> from aerated composting of food waste.* Sci. Total Environ., 254:65-74.

- 19.- **Homma H, Shinoyama H, Nobuta Y, Terashima Y, Amachi S, Fujii T.** 2007. *Lignin-degrading activity of edible mushroom *Strobilurus ohshimae* that forms fruiting bodies on buried soil (*Cryptomeria japonica*) twigs.* J Wood Sci. 53:80–4.
- 20.- **Houot, S., C. Francou, and C. Verge-Leviel.** 2001. *Gestion de la maturité des composts: conséquence sur leur valeur agronomique et leur inocuité. Les nouveaux défis de la fertilisation raisonnée; . Actes des 5èmes rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse de la terre.* Palais des Congrès de Blois. 27-29 novembre 2001. Ed. G.Thevenet (Comifer) et A.Joubert (Gemas).
- 21.- **Hummer M., Lechner P.** 1999. *Compost as a landfill cover material for the elimination of methane emissions.* Proceeding ORBIT 99.pp. 503-510. Germany.
- 22.- **Hummer M., Lechner P.** 2001. *Compost as a landfill cover material for the elimination of methane emissions and leachate from landfill.* Proceeding ORBIT 2001.pp. 187-192. Sevilla Spain.
- 23.- **Instituto Nacional de Ecología (INE),** 2003. *Segundo almanaque de datos y tendencias de la calidad del aire en seis ciudades mexicanas.* Jiménez Editores e Impresores, S.A. de C.V., México, D.F., 220 pp.
- 24.- **Jeyabal A., y Kuppuswamy, G.,** 2001. *Recycling of organic wastes for the production of vermicompost and its response in rice–legume cropping system and soil fertility,* Eur. J. Agron. 15:3 153–170.
- 25.- **John F, Monsalve G, Medina PIV, Ruiz CAA,** 2006. *Ethanol production of banana shell and cassava starch.* Dyna Universidad Nacional de Colombia. 73:21–7.
- 26.- **Jordan, S.L., McDonald, I.R., Kraczkiewicz-Dowjat, A.J., Kelly, D.P., Rainey, F.A., Murrell, J.K., Wood, A.P.,** 1997. *Autotrophic growth on carbon disulfide is a property of novel strains of *Paracoccus denitrificans*.* Arch. Microbiol. 168, 225–236.
- 27.- **Kim, Y.K., Kwak, M.S., Lee, S.B., Lee, W.H., Choi, J.W.,** 2002. *Effects of pretreatments on thermophilic aerobic digestion.* Journal of Environmental Engineering 128 (8), 755–763.
- 28.- **Kirchman, H., Widen, P.,** 1994. *Separately collected organic household wastes.* Swedish J.agric. Res., 24:3-12.

- 29.- **Kirchmann, H., Beck-Friis, B., Pell, M., Sonesson, U., Jönsson, H., .,** 2000. *Formation and emission of N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> from compost heaps of organic household waste.* Environmental Monitoring and Assessment 62, 317–331.
- 30.- **Leclerc, B.** 2001. *Guide des matières organiques.* (Eds Guide Techniques de l'ITAB).
- 31.- **Lorenzati, Ruetsch y Cia, S. A.** *El mani industrial, oro cordobes;* 2007 ([www.lorenzati.com/novedad\\_detalle.asp?codigo=30-12k](http://www.lorenzati.com/novedad_detalle.asp?codigo=30-12k)).
- 32.- **Malherbe S, Cloete TE.** *Lignocellulose biodegradation: fundamentals and applications.* Re/Views Environ Sci Bio/Technol 2002;1:105–14.
- 33.- **Martinez AT, Speranza M, Ruiz-Duenas FJ, Ferreira P, Camarero S, Guillen F.** *Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin.* Int Microbiology 2005;8:195–204.
- 34.- **NOM-004-SEMARNAT-2002.** *Norma Oficial Mexicana. Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.* México, D. F., Diario Oficial de la Federación, 15 de agosto de 2003.
- 35.- **NOM-004-SEMARNAT-2004** Norma Oficial Mexicana. Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.- *Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.* México, D. F., Diario Oficial de la Federación, 15 de agosto de 2004.
- 36.- **Perez J, Munoz-Dorado J, De-la-Rubia T, Martinez J.** *Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview.* Int Microbiol 2002;5:53–63.
- 37.- **Persson A., Quendnau M. and Ahrne S.** (1995). *Composting oily sludges: Characterizing Microflora using Randomly Amplified polymorphic DNA.* In: *Monitoring and verification of bioremediation.* Hinchee R.E., Douglas G.S. and Ong S.K. Columbus, OH: Battelle Press. pp. 147-155.

- 38.- **Perea-Estrada**, V.M., **Pérez-Moreno**, J., de **Bauer**, L.I., **Fenn**, M., **Trinidad-Santos**, A., **Hernández-Tejeda**, T., 2005. *Fertilización, tipos de suelo y hongos micorrízicos y endófitos radicales asociados al eucalipto*. Terra Latinoamericana 23, 201e212.
- 39.- **Quintero DJC**, **Gumersindo FEJOOC**, **Lemar RJM.**, 2006. *Production of ligninolytic enzymes from basidiomycete fungi on lignocellulosic materials*. Rev Facult Quim Farmaceut, 13:61–7.
- 40.- **Rabinovich ML**, **Melnik MS**, **Bolobova**, 2002. *Microbial cellulases: a review*. Appl Biochem Microbiol., 38:305–21.
- 41.- **Rabinovich ML**, **Melnik MS**, **Bolobova**, 2004. AV. *The structure and mechanism of action of cellulolytic enzymes*. Biochemistry-Moscow, 68:850–71.
- 42.- **Rani, P.**, **Kalyani, N.**, **Prathiba, K.**, *Evaluation of lignocellulosic waste for production of edible mushroom*. Appl Biochem Biotechnol 2008;151:151–59.
- 43.- **René C.**, 2002. *Utilización de la composta en procesos para remoción de contaminantes*. UADY.
- 44.- **Riser-Roberts**, 1998. GLOSARIO.
- 45.- **Sauri M.**, 2002. *Utilización de la composta en procesos para la remoción de contaminantes*. UADY.
46. **Stach, J.E.M.**, **Bathe, S.**, **Clapp, J.P.**, 2000. *PCR-SSCP Comparison of 16S rRNA sequence diversity in soil DNA obtained using different isolation and purification*.
- 47.- **SEMARNAT-CECADESU**, 2004.
- 48.- **Tejada, M.**, **Hernández, M.T.**, **García, C.**, 2006. *Application of two organic amendments on soil restoration: effects on the soil biological properties*. Journal of Environmental Quality 35, 1010–1017
- 49.- **Ten Have R** y **Teunissen PJM**. *Oxidative mechanisms involved in lignin degradation by white-rot fungi*. Chem Rev 2001;11:3397–414.
- 50.- **Weston, A.**, 2003. *Bioaugmentation*. Innovative Technology Group. Vol. 3, No. 4 Niagara Falls, New York.



- 51.- **Wilson** D.C. 1999. *Directions in waste management. Past, present and future*. International Directory of Solid Waste Management 1999/2000. The ISWA Year book. James & James Science Publishers. Hong Kong. pp. 31-36.
- 52.- **Zumstein, E., Moletta, R., Godon, J.**, 2000. *Examination of two years of community dynamics in an anaerobic bioreactor using fluorescence polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism analysis*. Environ. Microbiol. 66, 69–78.
- 53.- <http://mexicolimpio.semarnat.gob.mx/apoyomunicipios/index.php>
- 54.- [www.inegi.gob.mx](http://www.inegi.gob.mx)