

# POTENCIAL DE ALGUNOS MICROORGANISMOS EN EL COMPOSTAJE DE RESIDUOS SÓLIDOS

## Potential of Different Microorganisms for Solid Waste Composting

Alejandro D. Camacho<sup>1</sup>, Laura Martínez<sup>1</sup>, Hugo Ramírez Saad<sup>2</sup>,  
Ricardo Valenzuela<sup>1</sup> y María Valdés<sup>1\*</sup>

### RESUMEN

En México se producen diariamente toneladas de residuos sólidos que requieren un tratamiento seguro. El aumento de residuos que contienen hidrocarburos polimerizados muestra la necesidad de implementar un proceso de compostaje. Una alternativa para la mejora de este proceso es la búsqueda de microorganismos presentes en estos residuos que permitan acelerar los procesos de degradación que conduzcan a un compostaje eficiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar microorganismos con potencial de ser utilizados en el proceso de compostaje. Se obtuvieron 17 aislados de 5 compostas; los hongos se caracterizaron mediante morfología microscópica y colonial y las actinobacterias por amplificación del 16S rDNA. A los mismos se les hicieron pruebas de crecimiento a diferentes condiciones de pH y temperatura, además de pruebas cualitativas y cuantitativas de hidrólisis de celulosa y pectina. Con base en los resultados de esas pruebas, se seleccionaron 2 cepas de actinobacterias y 1 hongo filamentoso. Se elaboró un inóculo con esos 3 microorganismos para evaluar su potencial de degradación; se inoculó y se incubó durante 70 días a 45 °C un sustrato compuesto por residuos domésticos y de poda de jardín. Se evaluaron nitrógeno total, materia orgánica, pH, azúcares reductores totales, carbono total y la relación C/N de cada tratamiento antes y después del proceso. Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza (univariado) y a un análisis discriminante canónico (multivariado). La eficiencia del proceso de compostaje

(baja relación C/N del sustrato, indicador de la estabilidad del producto final) mostró la activa participación de los microorganismos inoculados; también se observó la participación de los microorganismos nativos del sustrato natural.

**Palabras clave:** celulosa, pectina, actinobacterias, hongo.

### SUMMARY

In Mexico high amounts of solid organic waste are produced and require safe treatment. The increase of organic waste that contains polymerized hydrocarbons requires an efficient composting process. An alternative for improving this process is the search for microorganisms in the same waste to accelerate degradation of organic residues. The aim of this study was to evaluate the effect of several microorganisms in the composting process. Seventeen isolates were obtained from several composts. Fungi were characterized by microscopic and colonial morphology and actinobacteria were identified through the amplification of the 16S rDNA. The microorganisms were grown under different pH and temperature. The qualitative and quantitative ability for hydrolysis of cellulose and pectin were tested. Two strains of actinobacteria and one filamentous fungus were selected to prepare an inoculum. A sterile substrate based on domestic and garden wastes was inoculated with the selected strains to evaluate their composting potential. The inoculated substrate was incubated at 45 °C for 70 days. The amount of total nitrogen, total organic matter, pH, total reducing sugars, total carbon and the C/N ratio of each treatment were determined. Data were submitted to univariate and multivariate statistical analyses to evaluate the efficiency of the composting process. The efficiency of the solid waste composting (low ratio C/N, indicative of the compost maturity) showed active participation of the inoculated

<sup>1</sup> Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas Delegación Miguel Hidalgo. 11340 México, D.F.

\* Autor responsable (mvaldesr@ipn.mx)

<sup>2</sup> Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Coyoacán, Villa Quietud. 04960 México, D.F.

microorganisms as well as the participation of the microorganisms present in the original substrate.

**Index words:** *cellulose, pectin, actinobacteria, fungus.*

## INTRODUCCIÓN

En la ciudad de México se producen 45 949 850 toneladas por año de basura en forma de residuos sólidos. Parte de este material es inerte, compuesto de vidrio, metales, plásticos, etc., y el resto son residuos orgánicos sólidos, como desperdicios de cocina y jardín que son fácilmente degradables (URL 1).

El compostaje es una buena opción para solucionar este problema por diferentes razones: la biotransformación de desperdicios a través de este proceso conduce a la eliminación de residuos potencialmente tóxicos (Vinnerås *et al.*, 2003), porque el producto final, la composta, mejora la calidad del suelo al adicionarse al mismo como abono orgánico y porque algunas compostas suprimen el desarrollo de fitopatógenos (Craft y Nelson, 1996).

El compostaje es considerado como la descomposición biológica aerobia en donde parte de la materia orgánica es transformada a sustancias estables parecidas a los ácidos húmicos (Farrell y Jones, 2009) y como una herramienta biotecnológica en la transformación de los residuos sólidos orgánicos en productos agrícolas apropiados (Baffi *et al.*, 2007).

Los microorganismos que participan en el compostaje requieren carbono y relativamente poco nitrógeno para su actividad. Si reciben esos elementos en una relación correcta, se reproducen rápidamente y consecuentemente, la descomposición de los residuos orgánicos también se acelera. La relación C/N óptima durante el inicio del proceso del compostaje de residuos, es de 25 hasta 35. Si la relación es más alta, la descomposición es más lenta. Si la relación es < 20 durante el compostaje, se podría producir amoníaco gaseoso, lo cual no solamente daña al medio ambiente sino también empeora la calidad de la composta (Bernai *et al.*, 1998).

A los dos o tres días del inicio el compostaje, el autocalentamiento normalmente eleva la temperatura de la composta a 55-60 °C o más. Después de algunos días a temperatura máxima, hay un descenso gradual de ésta que conduce a temperaturas mesofílicas; durante este periodo, estas poblaciones microbianas son

reemplazadas por las mesofílicas que sobrevivieron al proceso termofílico. De manera que hay una sucesión de ambientes, debido principalmente a la modificación de sustratos y temperaturas, y a una serie correspondiente de poblaciones microbianas, pues el incremento de la temperatura durante el compostaje tiene como consecuencia el rápido rompimiento de los compuestos orgánicos por microorganismos termofílicos, por lo que la materia orgánica comienza a ser más estable (Raut *et al.*, 2008).

La descripción de los microorganismos que intervienen en el proceso de compostaje es complicada, debido a que las poblaciones y las comunidades varían continuamente en función de la evolución de la temperatura, nutrientes, oxígeno, contenido de agua, pH, etc. Los microorganismos que más participan en el proceso son hongos y actinomicetos por su capacidad para degradar residuos de plantas y animales como celulosa, quitina y pectina, y en algunos por su termotolerancia (Farrell y Jones, 2009). La participación de los actinomicetos durante el proceso de compostaje es relevante, debido a su capacidad enzimática para hidrolizar sustancias orgánicas complejas (celulosa, pectina, etc.) (Tiquia, 2002). Asimismo, muchas de las especies que participan en este proceso son tolerantes a las temperaturas que alcanza el mismo. Por tal motivo, *Streptomyces albogriseolus* y *S. thermovulgaris* son los actinomicetos termófilos más frecuentemente aislados de las compostas (Chen *et al.*, 2013). Los hongos filamentosos constituyen un grupo muy amplio; pueden estar implicados durante el proceso de compostaje, participando en la degradación aeróbica de la materia orgánica debido a su alta capacidad lignocelulolítica; *Aspergillus fumigatus*, termófilo, ha sido encontrado frecuentemente en compostas (Golueke *et al.*, 1954).

Una alternativa para mejorar el proceso de compostaje es la búsqueda de microorganismos con capacidad de síntesis de enzimas hidrolíticas bajo diferentes condiciones de pH y temperatura que permitan acelerar el proceso. Se asume que el proceso se acelera incrementando el número de microorganismos mediante adición artificial de los mismos, aumentando o sustituyendo la población nativa microbiana, proceso que se conoce como bioaumentación (Zeng *et al.*, 2009). El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de algunos microorganismos, aislados de diferentes compostas, que pudieran ser utilizados en el proceso del compostaje.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Como fuente de aislamiento de los microorganismos se utilizaron muestras de 5 compostas proporcionadas por el Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del IPN. El aislamiento se hizo con diluciones seriadas y siembra para bacterias en Agar Nutritivo, para hongos en PDA y Czapeck para actinomicetos. Con el propósito de simular las condiciones en las que se lleva a cabo el proceso de compostaje, a todos los microorganismos se les hicieron pruebas *in vitro* de crecimiento a temperaturas de 28, 37, 45 y 55 °C y a valores de pH de 5.5, 7.0 y 8.5 durante 72 horas de incubación.

La prueba cualitativa de degradación enzimática de celulosa se hizo con el colorante Rojo Congo para la visualización de halos de hidrólisis de carboximetilcelulosa (CMC Sigma Aldrich) alrededor de las colonias a probar, usando el sistema de difusión en placas de agar (Teather y Wood, 1982; Mikán y Castellanos, 2004). La presencia de enzimas pectinolíticas fue detectada usando un medio de cultivo sólido descrito por Hankin *et al.* (1971) visualizando también halos de hidrólisis mediante la precipitación de la pectina no hidrolizada con una solución de hexadeciltrimetil bromuro de amonio (CTAB Sigma Aldrich).

La determinación cuantitativa de hidrólisis de celulosa y pectina para determinar las actividades enzimáticas específicas se hizo empleando el método de Somogyi (1952) conjuntamente con la cuantificación de proteínas por el método de Bradford (1976).

A los aislados microbianos seleccionados se les confrontó directamente en medio de cultivo para descartar efectos de antagonismo entre ellos para su posible uso durante el compostaje, de acuerdo a la metodología de Furhmann (1994).

Con base en los resultados obtenidos de la cuantificación de actividad celulolítica y pectinolítica específicas, así como las pruebas de antagonismo, se seleccionaron los microorganismos que obtuvieron las mayores actividades enzimáticas, para la elaboración de un inóculo. Para ello se cultivaron el hongo y las actinobacterias seleccionadas hasta la formación de esporas. Se cosecharon las esporas de los microorganismos por separado con solución salina para después ajustar a  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> cada suspensión para inocular 5 mL kg<sup>-1</sup> de sustrato (Wei *et al.*, 2007; Zeng *et al.*, 2009). Para la conservación a largo plazo

de las cepas se colocaron en suspensión con glicerol al 15% como agente crioprotector y almacenadas a -70°C.

El sustrato utilizado estuvo compuesto por residuos de poda de jardín y residuos domésticos. El mismo se secó a temperatura ambiente, se molió y pasó por un tamiz con malla de 0.850 mm de apertura. La mitad del sustrato se esterilizó y tanto el esterilizado como el no estéril se humedecieron al 50% de su capacidad de retención de agua, con agua esterilizada. Las macetas donde se hizo el ensayo fueron previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio.

Los tratamientos fueron los siguientes: 1) sustrato estéril sin inocular, 2) sustrato estéril inoculado, 3) sustrato no estéril sin inocular y 4) sustrato no estéril inoculado.

Se evaluaron periódicamente durante 70 días los siguientes parámetros: nitrógeno total (método modificado de Kjeldahl, Jackson, 1982); materia orgánica total y carbono total (método Walkley-Black, Jackson, 1982); relación C/N; pH (Jackson, 1982) y azúcares reductores totales (Somogyi, 1952).

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza (univariado) vía modelo general lineal y un análisis discriminante canónico (multivariado) (ADC) con cálculo de distancias de Mahalanobis para analizar simultáneamente las múltiples variables de respuesta y determinar las diferencias significativas entre los tratamientos, en todos los casos  $\alpha = 0.05$ . Las medias de clase por tratamiento para cada una de las variables canónicas, se graficaron en ejes cartesianos para representar los niveles de separación entre tratamientos. Se utilizó el paquete estadístico SAS V.9 (URL2).

La identificación taxonómica del hongo se determinó por medio de la morfología de las esporas asexuales y de los conidióforos. Se tomó en cuenta la forma, el color y la ornamentación de las conidiosporas, el tipo de los conidióforos, la forma de la célula pie ("L" o "T") o de la vesícula conidial (redonda, elíptica o claviforme), el área fértil de la vesícula conidial con o sin, una o varias capas de mètula que da lugar a fiálides o células conidiógenas productoras de cadenas largas de conidios (Raper y Fennell, 1965).

La identificación taxonómica de las bacterias se llevó a cabo amplificando el gen ribosomal 16S con los oligonucleóticos universales para procariotes 27f y 1495r (Bianciotto *et al.*, 1996), así como los oligonucleótidos fD1 y rD1 (Weisburg *et al.*, 1991). Los fragmentos se clonaron utilizando el sistema TOPO y se secuenciaron,

después se sometieron a análisis BLAST para determinar su homología con otras secuencias del Gene Bank.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

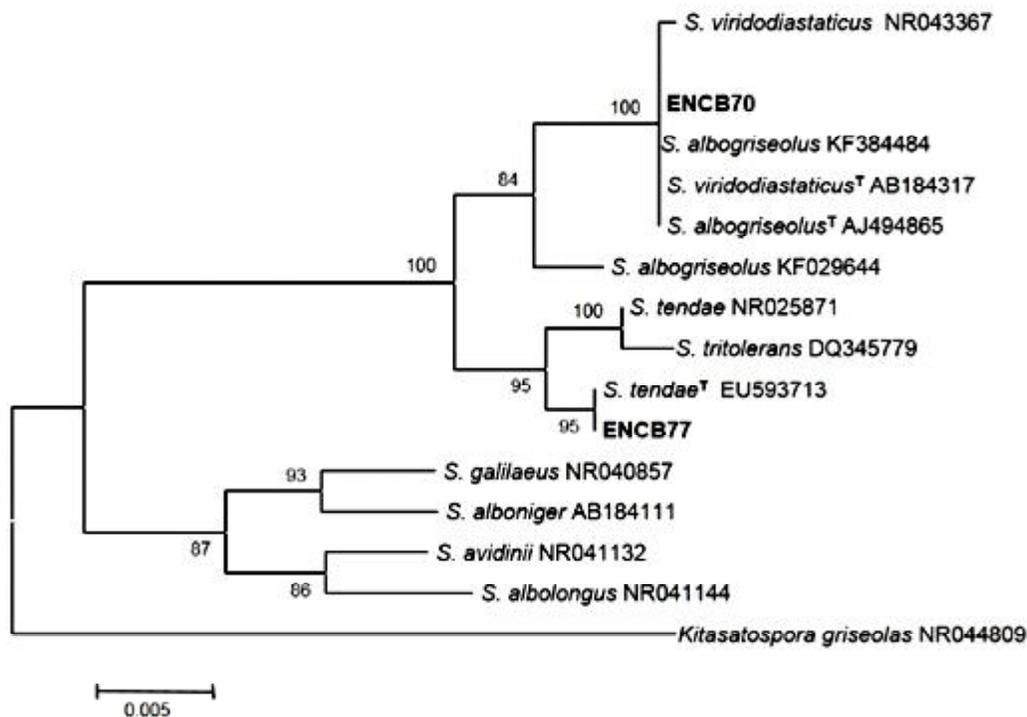
Las actinobacterias estudiadas fueron identificadas como *Streptomyces albogriseolus* y *S. tendae*; el hongo como *Aspergillus fumigatus*.

En la Figura 1 se muestra la ubicación filogenética de los actinomicetos aislados en este estudio. La cepa ENCB70 pertenece al clado 110 (*Streptomyces albogriseolus* – *S. viridostaticus*), mostrando secuencias idénticas a las especies tipo. Mientras que la cepa ENCB77 se ubica en el clado 103 que contiene al menos 7 especies diferentes, dentro de ellas la especie tipo de *S. tendae* con la que nuestra cepa tiene un 100% de similitud en la secuencia del gen 16S RNA. Los clados fueron definidos por Labeda *et al.* (2012) en su revisión comprensiva sobre la filogenia de la familia *Streptomycetaceae*.

Las actinobacterias y los hongos filamentosos predominaron en los ensayos de aislamiento de microorganismos a partir de las compostas. De acuerdo con Inbar *et al.* (2005), los miembros del grupo de las actinobacterias son encontrados frecuentemente en suelo, rizósfera y en materiales que han sido sometidos al proceso de compostaje.

Los sustratos ricos en materia orgánica (como es el caso del utilizado en el estudio el cual contenía 70% de materia orgánica), tienden a elevar su temperatura conforme la comunidad microbiana nativa descompone con rapidez los sustratos utilizables produciendo calor metabólico (McKinley y Vestal, 1984). En este estudio, las actinobacterias y el hongo filamentosos seleccionados mostraron ser termófilos; a una temperatura de incubación de hasta 55 °C incrementaron su velocidad de crecimiento y esporulación.

En relación al pH, el hongo fue capaz de crecer a todos los valores probados; las actinobacterias crecieron únicamente a valores de pH 7. Estas propiedades de



**Figura 1. Dendrograma construido con secuencias del gen 16S RNA de las cepas obtenidas y varios actinomicetos del género *Streptomyces*.** Las especies tipo se marcan con una (T), el número de acceso aparece junto al nombre respectivo. El árbol se construyó usando 1352 nucleótidos para el análisis, mediante el modelo de dos parámetros de Kimura y Neighbor-Joining como método de agrupamiento. La robustez de cada nodo se evaluó por bootstrap con 1000 pseudoréplicas, los valores porcentuales se muestran en cada nodo. La secuencia de *K. griseolas* se usó para enraizar el árbol. La escala indica 0.5% de divergencia estimada entre las secuencias.

los microorganismos en estudio sugieren que en el proceso de compostaje donde las temperaturas suben a más de 55 °C y el sustrato se alcaliniza, la actividad enzimática no disminuye, pues los actinomicetos son basófilos.

En el ensayo cualitativo de hidrólisis de la celulosa, bajo 3 condiciones de temperatura (28, 37 y 45 °C) y 3 valores de pH (5.5, 7 y 8.5) en un diseño de pruebas cruzadas, ninguna actinobacteria fue capaz de hidrolizar CMC a pH 8.5; el hongo mostró actividad a esa condición de pH y a 28, 37 y 45 °C.

En cuanto a la hidrólisis cualitativa de pectina, a pH de 5.5 y a todas las temperaturas de incubación al igual que a pH de 8.5 y 55 °C de incubación no hubo actividad pectinolítica en las actinobacterias. Esto podría explicarse porque las enzimas pectinolíticas son inhibidas a valores de pH ácidos y a cualquier temperatura las bacterias y las actinobacterias (Membré y Burlot, 1994), mientras que en estudios de actividad pectinolítica a pH ácido en algunos géneros de hongos se han encontrado isoformas de estas enzimas dependiendo de su punto isoeléctrico, aunque se han descrito la presencia de pectatoliasas en algunas especies de *Streptomyces* y *Thermomonospora* (Brühlmann et al., 1994).

En la determinación cuantitativa de la actividad de las celulasas, los 3 microorganismos tuvieron gran actividad celololítica. Ramírez y Coha (2003), determinaron la actividad celololítica cuantitativa de algunas cepas de *Streptomyces* sp., siendo la mayor actividad específica de 20.14 U mg<sup>-1</sup> de proteína soluble encontrándose este valor por debajo de los mejores resultados obtenidos en este estudio.

Los resultados obtenidos de la cuantificación de la actividad celololítica y pectinolítica, y el bioensayo de antagonismo, nos permitieron preparar el inóculo.

Las características generales de los microorganismos se muestran en el Cuadro 1.

En lo que respecta a la evaluación del potencial de degradación de los microorganismos sobre los residuos de poda de jardín y domésticos, la cantidad de nitrógeno total cuantificada al inicio del proceso fue de 1.28% en el suelo sin esterilizar y de 1.06% en el suelo esterilizado. La diferencia en estos valores probablemente fue debida al proceso de esterilización en donde al existir altas condiciones de presión y temperatura se pudieron desprender algunos compuestos volátiles que contienen nitrógeno como el amonio ocasionando una ligera pérdida de este elemento. La cantidad de nitrógeno total al final del período de incubación aumentó en todos los tratamientos menos en el que contenía el sustrato estéril sin inocular (Cuadro 2).

Otros estudios (Wei et al., 2007) reportaron al inicio del compostaje porcentajes de N total de 2.7 y 2.8% en residuos orgánicos municipales; Xi et al. (2005) encontraron valores de 1.1-1.4% en residuos orgánicos frescos y Farrel y Jones (2009) obtuvieron valores de 1-2.5% al inicio del proceso en residuos orgánicos municipales. Los valores obtenidos en el presente estudio están dentro de los intervalos reportados por los autores mencionados.

La proporción de materia orgánica al inicio del proceso fue del 70% del total del sustrato, durante el proceso estos valores fueron disminuyendo mostrando al final de 70 días 24.61% en el sustrato no estéril inoculado, mientras que en el sustrato estéril sin inocular (sustrato control), este valor se mantuvo en 53.13% siendo el más alto en comparación con los demás tratamientos (Figura 2).

La relación baja C/N (menor de 25) es tradicionalmente utilizada para establecer el grado de

**Cuadro 1. Características generales de los microorganismos seleccionados para la elaboración del inóculo de prueba.**

Cepa	Temperatura máxima de crecimiento	pH de crecimiento	AE celololítica	AE Pectinolítica	Efecto antagonista
	°C		- - - - - U mg <sup>-1</sup> proteína - - - - -		
<i>S.albogriseolus</i> (ENCB 70)	55	7.0 a 8.5	24.51	0.66	nulo
<i>S.tendae</i> (ENCB 77)	55	7.0 a 8.5	28.7	0.59	nulo
<i>Aspergillus fumigatus</i>	55	5.5 a 8.5	37.68	2.94	nulo

AE = actividad enzimática.

**Cuadro 2. Cantidad de nitrógeno total al inicio y al final del proceso de compostaje (70 días).**

Tratamiento	NT al inicio	NT al final
	----- % -----	
Sustrato estéril sin inocular	1.06	1.07
Sustrato estéril inoculado	1.06	1.95
Sustrato no estéril sin inocular	1.28	1.98
Sustrato no estéril inoculado	1.28	2.22

NT = nitrógeno total.

madurez de una composta (Bernai *et al.*, 1998). La relación C/N de los 3 tratamientos con microorganismos de este estudio al final del proceso fue menor de 25. El valor de la relación C/N más bajo se mostró en el sustrato no estéril inoculado, lo cual es un indicador de la estabilidad del producto final (Cuadro 3), además de mostrar el efecto positivo de la bioaumentación.

Cabe señalar que cuando el sustrato no estéril se inoculó con los microorganismos en estudio, la relación C/N final fue menor que cuando no se inoculó, lo que sugiere la participación activa de los microorganismos inoculados en el proceso.

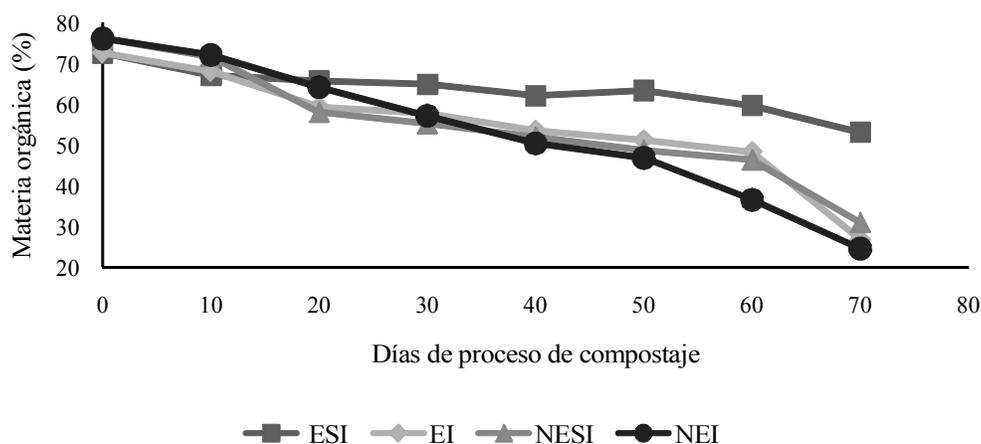
Los valores de pH del sustrato al inicio del compostaje fueron ligeramente ácidos (pH 6) y se modificaron durante el proceso. Los procesos involucrados en la degradación de la materia orgánica con la producción de amonio derivado de la degradación de proteínas (Ming *et al.*, 2008) condujeron a la alcalinización de los sustratos llegando a valores por

**Cuadro 3. Relación C/N de los diferentes tratamientos.**

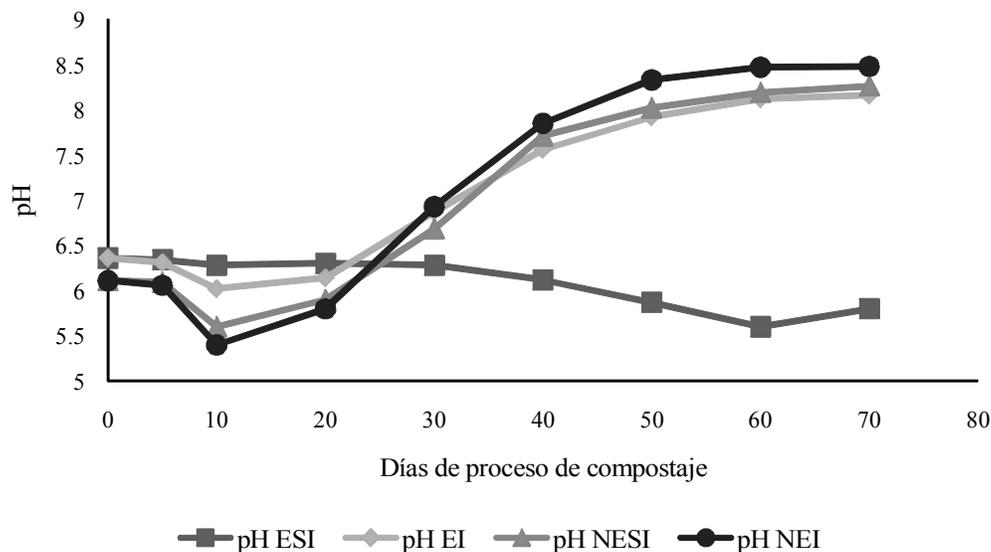
Tratamiento	C/N inicial	C/N final
Sustrato estéril sin inocular	39.82	28.66
Sustrato estéril inoculado	39.82	7.99
Sustrato no estéril sin inocular	34.59	9.08
Sustrato no estéril inoculado	34.59	6.44

encima de pH 8, a excepción del sustrato control (estéril sin inocular) (Figura 3).

La cantidad de azúcares reductores totales disminuyó desde los primeros días de incubación en los sustratos tratados hasta alcanzar los valores mínimos 0.016-0.036; mientras que en el sustrato estéril sin inocular se mantuvieron constantes (Figura 4). Los sustratos tratados y el sustrato sin esterilizar contenían comunidades microbianas que pudieron consumir esos compuestos hasta agotar casi por completo las fracciones degradables de celulosa y llegar a la estabilización de la materia orgánica, mientras que en el sustrato estéril sin inocular estos oligosacáridos se liberaron de la materia orgánica vegetal y acumularon de manera natural o probablemente por hidrólisis a través del calor externo recibido de la incubación a 45 °C y al no haber microorganismos que terminaran de hidrolizar y consumieran los oligosacáridos liberados hubo acumulación de los mismos. El consumo de los azúcares es un proceso altamente eficiente que utiliza un sistema transportador en donde el consumo dentro de las células



**Figura 2. Materia orgánica en el sustrato durante el proceso de compostaje.** ESI = sustrato estéril sin inocular; EI = sustrato estéril inoculado; NESI = sustrato no estéril sin inocular; NEI = sustrato no estéril inoculado.



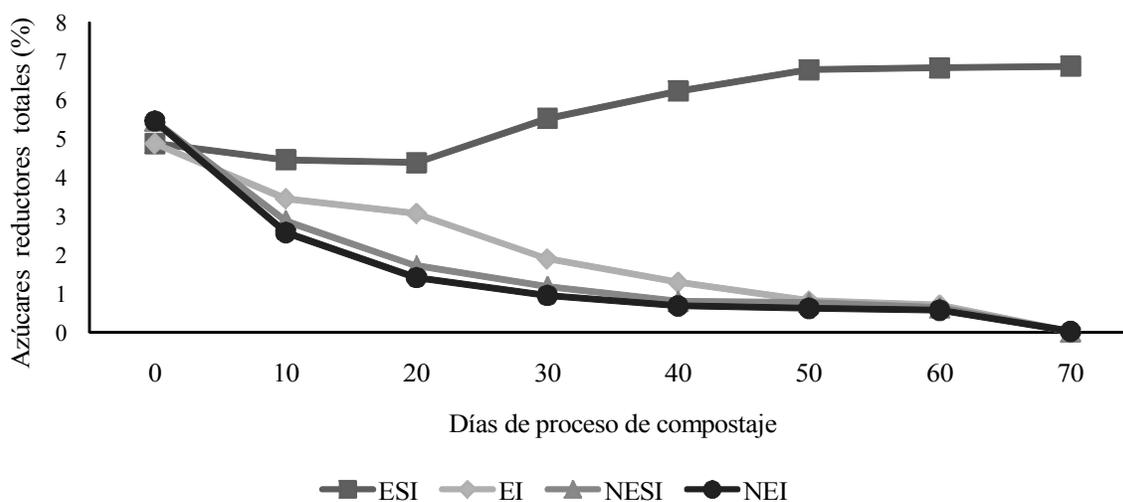
**Figura 3. Alcalinización del sustrato en compostaje a través de los días de incubación.** ESI = sustrato estéril sin inocular; EI = sustrato estéril inoculado; NESI = sustrato no estéril sin inocular; NEI = sustrato no estéril inoculado.

de los azúcares solubles frecuentemente ocurre segundos después de la liberación inicial de las fibras de celulosa. Después de haber sido transportados al citosol, los azúcares comienzan a ser transformados por otras enzimas en glucosa-6-fosfato para entrar a la ruta glucolítica (Carere, 2008).

El resultado del análisis de varianza univariado indica que existen diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.0001$ ) para las variables pH y cantidad de

azúcares reductores; en cambio, para el caso del contenido de materia orgánica no se encontró diferencia significativa ( $P = 0.24$ ).

Como parte del análisis discriminante canónico (ADC), se calculó el cuadrado de la distancia Euclidiana entre grupos ( $d^2$ ). Estos valores se sometieron a pruebas de hipótesis utilizando las distancias de Mahalanobis que permitieron determinar los niveles de significancia por comparaciones pareadas entre los grupos (Cuadro 4).



**Figura 4. Disminución de azúcares reductores totales en los sustratos tratados y acumulación de los mismos en el sustrato estéril sin tratar, durante el proceso del compostaje.** ESI = sustrato estéril sin inocular; EI = sustrato estéril inoculado; NESI = sustrato no estéril sin inocular; NEI = sustrato no estéril inoculado.

**Cuadro 4. Análisis discriminante canónico de los diferentes tratamientos.**

Tratamiento			Probabilidad		
			$d^2$	Distancia de Mahalanobis	Significancia
Estéril CON inóculo	contra	Estéril SIN inóculo	7.12	< 0.0001	***
Estéril CON inóculo	contra	No estéril CON inóculo	0.24	0.42	N.S.
Estéril CON inóculo	contra	No estéril SIN inóculo	0.18	0.55	N.S.
Estéril SIN inóculo	contra	No estéril CON inóculo	9.55	< 0.0001	***
Estéril SIN inóculo	contra	No estéril SIN inóculo	8.87	< 0.0001	***
No estéril CON inóculo	contra	No estéril SIN inóculo	0.02	0.97	N.S.

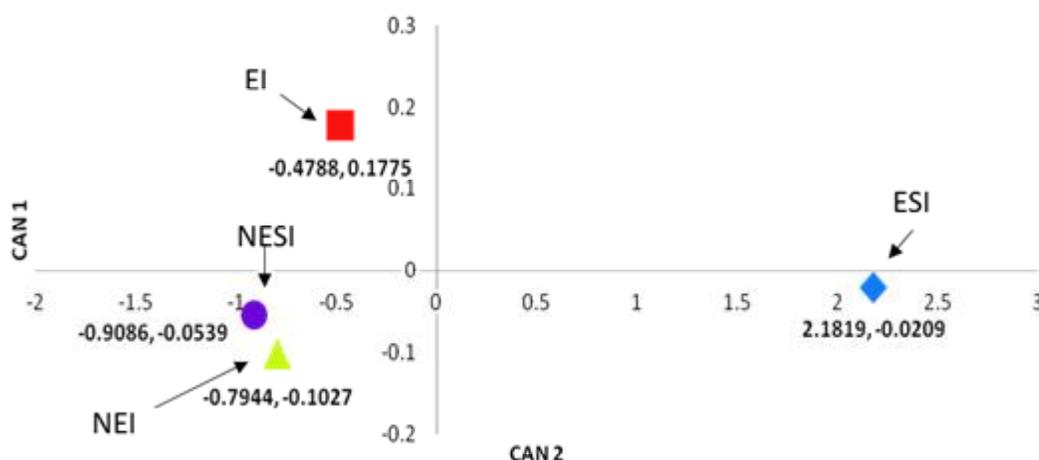
\*\*\*:  $P \leq 0.0001$ . NS: diferencia no significativa.

El resultado del análisis discriminante canónico, se muestra en la Figura 5, en el que se observan los niveles de separación entre los tratamientos en términos de medias de clase para cada variable canónica, en donde los ejes CAN1 y CAN2 explican el 99.96% de la varianza total.

De acuerdo al ADC, no se tuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos 2, 3 y 4, con lo cual se puede inferir que los microorganismos inoculados al sustrato esterilizado tuvieron un potencial de degradación por sí mismos similar al total de los microorganismos que se encontraban de manera endógena en el sustrato original sin esterilizar. Sin embargo, si tomamos en cuenta que la relación C/N baja (menor de 25) es tradicionalmente utilizada para establecer el grado de madurez de una composta, el valor de la relación C/N final del sustrato no esterilizado e inoculado fue de 6.44, cuando el sustrato no se esterilizó,

ni se inoculó (presencia solo de la población nativa), el valor fue de 9.8, lo que sugiere, en el caso del sustrato no estéril e inoculado con los microorganismos seleccionados, la activa y funcional participación de éstos últimos; en el caso donde solo hubo la presencia de la población nativa del sustrato en estudio, sugiere una buena participación de los microorganismos nativos del mismo.

Por otro lado el tratamiento control (sustrato esterilizado sin inocular) muestra diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos, pues se trata del sustrato esterilizado sin inocular, donde no hubo modificaciones del mismo en términos de nitrógeno total, materia orgánica, pH, azúcares reductores totales, carbono total y relación C/N. La diferencia en el compostaje entre este tratamiento y los tratamientos inoculados y el natural se muestra en la Figura 6.



**Figura 5. Medias de clase para cada tratamiento, ubicados en los ejes canónicos Can1 y Can2 resultantes del Análisis Discriminante Canónico.** ESI = sustrato estéril sin inocular; EI = sustrato estéril inoculado; NEI = sustrato no estéril inoculado; NESI = sustrato estéril sin inocular.



**Figura 6. Transformación de los residuos vegetales después de 70 días de incubación.** 1 = sustrato estéril sin inocular (testigo absoluto); 2 = sustrato estéril inoculado; 3 = sustrato no estéril sin inocular; 4 = sustrato no estéril inoculado.

## CONCLUSIONES

- En las compostas utilizadas para aislar microorganismos, las actinobacterias y los hongos filamentosos predominaron en los ensayos de aislamiento. Las actinobacterias seleccionadas fueron identificadas como *Streptomyces albogriseolus* y *S. tendae*; el hongo como *Aspergillus fumigatus*. Tanto las actinobacterias como el hongo filamentosos seleccionados mostraron ser termófilos; a una temperatura de incubación de hasta 55 °C incrementaron su velocidad de crecimiento y esporulación.

- El potencial de compostaje del consorcio de los microorganismos aislados y estudiados fue positivo ya que el valor bajo de la relación C/N, tradicionalmente utilizada para establecer el grado de madurez de una composta, bajó considerablemente durante el proceso. Así mismo se observó que los microorganismos presentes en el sustrato ensayado también tuvieron una participación activa, manifiesta a través de un valor bajo de la relación C/N.

- El grado de madurez de la composta obtenida con la bioaumentación en los 70 días del proceso logró incrementarse con los microorganismos inoculados en el sustrato original, lo que sugiere que los mismos podrían utilizarse en el proceso de compostaje para acelerarlo y ser utilizado en corto tiempo para el mejoramiento de la calidad de suelos pobres.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Secretaría de Investigación y Postgrado del IPN por el apoyo parcial financiero al proyecto. Laura Martínez Montiel agradece a CONACYT por la beca recibida para sus estudios de Maestría. Nuestro agradecimiento a la Dra. Marycarmen Villegas por las ideas aportadas a este trabajo.

## LITERATURA CITADA

- Baffi, C., M. T. Dell'Abate, A. Nassisi, S. Silva, A. Benedetti, P. L. Genevini, and F. Adani. 2007. Determination of biological stability in compost: A comparison of methodologies. *Soil Biol. Biochem.* 39: 1284-1293.
- Bernai, M. P., C. Peredes, M. A. Sánchez-Monedero, and J. Cegarra. 1998. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresour. Technol.* 63: 91-99.
- Bianciotto, V., C. Bandi, D. Minerdi, M. Sironi, H. V. Tichy, and P. Bonfante. 1996. An obligately endosymbiotic mycorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 3005-3010.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Brühlmann, F., K. S. Kim, W. Zimmerman, and A. Fiechter. 1994. Pectinolytic enzymes from actinomycetes for the degumming of ramie bast fibers. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2107-2112.
- Carere, C. R., R. Sparling, N. Cicek, and D. Levin. 2008. Third generation biofuels via direct cellulose fermentation. *Int. J. Mol. Sci.* 9: 1342-1360.
- Chen, T., L. Wang, O. Wang, and J. Han. 2013. Isolation and identification of thermophilic actinomycetes in asparagus old stem compost. *J. Shanxi Agr. Sci.* 1: 40-45.
- Craft, C. M. and E. B. Nelson. 1996. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 1550-1557.
- Farrel, M. and D. L. Jones. 2009. Critical evaluation of municipal solid waste composting and potential compost markets. *Bioresour. Technol.* 100: 4301-4310.
- Fuhrmann, J. J. 1994. Isolation of soil microorganisms producing antibiotic compounds. pp. 379-405. *In:* R. W. Weaver, J. S. Angle, and P. S. Bottomley (eds.). *Methods of soil analysis, Part 2, Microbiological and Biochemical Properties.* SSSA Book Series 5. Madison, WI, USA.
- Golueke, C. G., B. J. Card, and P. H. McGauhey. 1954. A critical evaluation of inoculums in composting. *Appl. Microbiol.* 2: 45-53.
- Hankin, L., M. Zucker, and D. Sands. 1971. Improved solid medium for the detection and enumeration of pectolitic bacteria. *Appl. Microbiol.* 22: 205-209.
- Inbar, E., S. J. Green, Y. Hadar, and D. Minz. 2005. Competing factors of compost concentration and proximity to root affect the distribution of *Streptomyces*. *Microbiol. Ecol.* 50: 73-81.

- Jackson, M. L. 1982. Análisis químico de suelos. Omega. Barcelona, España.
- Labeda, D. P., M. Goodfellow, R. Brown, A. C. Ward, B. Lanoot, M. Vannanneyt, J. Swings, S.-B. Kim, Z. Liu, J. Chun, T. Tamura, A. Oguchi, T. Kikuchi, H. Kikuchi, T. Nishii, K. Tsuji, Y. Yamaguchi, A. Tase, M. Takahashi, T. Sakane, K. I. Suzuki, and K. Hatano. 2012. Phylogenetic study of the species within the family Streptomycetaceae. *Antonie van Leeuwenhoek* 101: 73-104.
- McKinley, V. L. and J. R. Vestal. 1984. Biokinetic analyses of adaptation and succession: Microbial activity in composting municipal sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 933-941.
- Membré, J. M. and P. M. Burlot. 1994. Effects of temperature, pH, and NaCl on growth and pectinolytic activity of *Pseudomonas marginalis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2017-2022.
- Mikán V., J. F. y D. E. Castellanos S. 2004. Screening para el aislamiento y caracterización de microorganismos y enzimas parcialmente útiles para la degradación de celulosas y hemicelulosas. *Rev. Colombiana Biotecnol.* 6: 58-71.
- Ming, L., P. Xuya, Z. Youcai, D. Wenchuan, C. Huashuai, L. Guotao, and W. Zhengsong. 2008. Microbial inoculum with leachate recirculated cultivation for the enhancement of OFMSW composting. *J. Hazard. Mater.* 153: 885-891.
- Ramírez, P. y J. M. Cocha. 2003. Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: Aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Rev. Peru. Biol.* 10: 67-77.
- Raper, K. B. and D. I. Fennell. 1965. The genus *Aspergillus*. Williams and Wilkins Co. Baltimore, MD, USA.
- Raut, M. P., S. P. M. Prince, J. Bhattacharyya, T. Chakrabarti, and S. Devotta. 2008. Microbial dynamics and enzyme activities during rapid composting of municipal solid waste. A compost maturity analysis perspective. *Biores. Technol.* 99:6512-6519.
- Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.* 195: 19-23.
- Teather, R. M. and P. J. Wood. 1982. Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 777-780.
- Tiquia, S. M. 2002. Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting. *J. Appl. Microbiol.* 92: 764-775.
- Vinnerås, B., A. Björklund, and H. Jönsson. 2003. Thermal composting of faecal matter as treatment and possible disinfection method-laboratory scale and pilot scale studies. *Bioresour. Technol.* 88: 47-54.
- Wei, Z., B. Xi, Y. Zhao, S. Wang, H. Liu, and Y. Jiang. 2007. Effect of inoculating microbes in municipal solid waste composting on characteristics of humic acids. *Chemosphere.* 68: 368-374.
- Weisburg, W. G., S. M. Barns, D. A. Pelletier, and D. J. Lane. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* 173: 697-703.
- Xi, B., G. Zhang, and H. Liu. 2005. Process kinetics of inoculation composting of municipal solid waste. *J. Hazard. Mater.* 124: 165-172.
- Zeng, G. M., H. L. Huang, D. H. Huang, X. Z. Yuan, R. Q. Jiang, M. Yu, H. Y. Yu, J. C. Zhang, R. Y. Wang, and X. L. Liu. 2009. Effect of inoculating white-rot fungus during different phases on the compost maturity of agricultural wastes. *Proc. Biochem.* 44: 396-400.

#### Referencias Electrónicas.

- URL 1. [www.sma.df.gob.mx/sma/links/download/biblioteca/inventario\\_residuos\\_solidos\\_2010.pdf](http://www.sma.df.gob.mx/sma/links/download/biblioteca/inventario_residuos_solidos_2010.pdf) (Consulta enero 20, 2011).
- URL 2. SAS® V.9. 2010 (Consulta octubre 20, 2010).