

CONTAMINACIÓN FECAL PRESENTES EN EL LIXIVIADO Y EN LA SOLUCIÓN ACUOSA DEL HUMUS DE LOMBRIZ: IMPORTANCIA DE SU CONTROL.

Clara García Ramos¹, Francisco Martínez Rodríguez¹, Sergio Chiroles Rubalcaba², Marcela Hernández Guillén¹, Nereida Chávez González¹, Juana María Dantín¹ y José Ángel Pascual Amaro.

RESUMEN

El trabajo se desarrolló en el Instituto de Suelos, utilizando la especie de lombriz *Eisenia foetida* y tuvo como objetivos evaluar la presencia de coliformes totales, coliformes fecales y *salmonella* spp. en la solución acuosa de humus de lombriz y lixiviados producidos a partir de Estiércol Vacuno, Pulpa de Café, Cachaza, Estiércol de Carnero y Estiércol de Conejo. El ensayo se estableció en canaletas divididas en ocho secciones de 0.34 m² cada una, con un sistema de drenaje para la colección de los lixiviados, y se organizó como un diseño de bloques al azar con dos factores: A (Tipo de sustrato) y B (Niveles de Humedad), con el factor B como una "subparcela" de A, cada tratamiento se replicó cuatro veces. El riego, en las variantes estudiadas, se realizó para un caso, mediante la determinación de la humedad del sustrato por el método gravimétrico y en el otro por el método empírico (método del puño). Los resultados indicaron que los valores de microorganismos patógenos presentes en el lixiviado de estiércol vacuno, estiércol de conejo y estiércol de carnero, resultaron elevados, comparado con los reportados por la Organización Mundial de la Salud, 2003, NMX-FF-109-SCFI, 2007 y NC-2013, mientras que en el caso de la solución acuosa de humus de lombriz los valores para las dos variantes de tratamiento utilizadas fueron inferiores a los señalados por dichas normas. Se hace necesario realizar un control sanitario sistemático de estos abonos orgánicos con vista a disminuir los niveles de contaminación ambiental y el desarrollo de enfermedades.

Palabras clave: lixiviados, solución acuosa de humus de lombriz y microorganismos patógenos.

Fecal contamination in the aqueous solution and lixiviates from vermicompost: control significance.

ABSTRACT

This work was conducted in the vermiculture area of the Soil Institute in Havana. Using the earthworm specie *Eisenia foetida*, the vermicomposting system was settle in order to assess the presence of total coliforms, fecal coliforms and *Salmonella* sp. in the aqueous solution and lixiviates from vermicompost obtained from coffee pulp, filter cake, bovine, sheep and rabbit manure. The essay was arranged in gutters divided into eight sections of 0,34 m² each, with a drainage system for the collection of the lixiviated. It was used a randomized block design with two factors: A (type of substrate) and B (moisture levels), considering factor B a sub-plot of A, each treatment contains four replicates. Two different ways for moisture determination in the substrates were used: the gravimetric and the empiric method (method of the fist). Irrigation was performed according to these

¹MSc. Clara García Ramos, investigador del Instituto de Suelos. Autopista Costa-Costa, y Antigua Carretera de Vento, Km. 8½., Boyeros. La Habana, Cuba. e-mail: investigacion5@isuelos.co.cu

²Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Infanta No. 1158 e/Llinás y Clavel. Centro Habana. La Habana, Cuba, Correo electrónico: director@inhem.sld.cu

procedures. Lixivates from bovine, rabbit and sheep manure contains high quantities of microorganisms considered as pathogens, in comparison to the reported values by the World Health Organization (WHO) in 2003, NMX FF 109 SCFI in 2007 and NC-2013. In contrast the aqueous solution from vermicompost showed inferior values to the indicated in such standards, for all treatments of this study. It becomes necessary to accomplish a sanitary and systematic control of these organic fertilizers in order to decrease environmental pollution levels and the development of diseases.

Key words: lixivate, vermicompost aqueous solution and pathogenic microorganisms.

INTRODUCCIÓN

En Cuba la utilización de los abonos orgánicos ha ocupado un lugar cimero para la producción de alimentos. Dentro de estos podemos citar el humus de lombriz producido mediante la descomposición de diversos residuos orgánicos por la acción combinada de las lombrices y los microorganismos (Peña, 2009; Artavia *et al.*, 2010 y Sandoval, 2011). Existe una tendencia a evaluar la calidad del humus desde el punto de vista químico (Morales, 2008 y García, 2008); sin embargo, no se tiene en cuenta su calidad microbiológica, aspecto este de gran importancia por la posibilidad de encontrarse contaminado por microorganismos patógenos, debido a que se utiliza como materiales iniciales estiércoles de origen animal (Franz, 2007 y Chávez *et al.*, 2013 a). El análisis microbiológico determina la calidad sanitaria de un material y su aptitud para distintos usos (Langen *et al.*, 2011).

Entre las fuentes de contaminación microbiológica durante el cultivo de frutas y hortalizas se incluyen las heces, el estiércol no curado, el suelo (Franz, 2007) y el agua de riego de mala calidad (Franz, 2007 y Monge *et al.*, 2011). En particular, el estiércol animal se usa comúnmente como fertilizante y acondicionador del suelo agrícola. Sin embargo, estos estiércoles generalmente se encuentran contaminados por patógenos (Semenas, 2012), los cuales pueden pasar al suelo e incluso a la cadena alimentaria. Una vez que el

alimento vegetal está contaminado resulta muy difícil asegurar su higiene en la línea de procesado.

Por esta razón Beuchat (1997) señala que la prevención de la contaminación de los productos agrícolas con agentes químicos y microbiológicos debe ser un objetivo prioritario durante las etapas de pre-cosecha y post-cosecha.

Estudios realizados por Mitchell (1978) demostraron la reducción de las poblaciones de patógenos como la *Salmonella enteritidis*, *Echerichia coli* y otras enterobacterias durante el sistema de lombricultura en el que se empleó la especie de lombriz *Eisenia foetida*. Posteriormente Eastman *et al.* (2001) en experimentos de campo demostraron la factibilidad de utilizar la lombricultura como un método para la reducción de coliformes fecales, virus entérico y huevos de helmintos. Schuldt (2003) refiere que las lombrices poseen una acción bactericida sobre los colibacilos patógenos, resultados similares a lo alcanzado por (Reines *et al.*, 2004 y Chávez *et al.*, 2013 b).

Estos resultados muestran que el proceso de lombricultura es un método eficaz no solo para transformar las heces en abonos orgánicos; sino también para la disminución de la contaminación de patógenos en los mismos.

Los riesgos generados por la presencia de patógenos son diferentes que los provocados por productos químicos, porque son organismos vivos que pueden multiplicarse en el ambiente, presentan

diversidad genética y su infectividad depende de la inmunidad del potencial hospedero (USEPA, 2011). En Cuba en la actualidad está generalizada la utilización tanto del lixiviado obtenido en el proceso de producción de humus de lombriz, producto del exceso de humedad, como del llamado “humus líquido” que es una solución acuosa elaborada a partir del humus de lombriz producido. Sin embargo, a pesar de la posibilidad real de la presencia de patógenos en estos productos, son pocas las investigaciones realizadas en esta temática.

El presente trabajo se realizó con el propósito de evaluar la presencia de microorganismos patógenos (coliformes totales, fecales y *Salmonella* sp.) tanto en el lixiviado obtenido en el sistema de lombricultura así como en el llamado “humus líquido”.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el área de lombricultura del Instituto de Suelos. Durante el estudio se evaluaron cinco sustratos para la cría de las lombrices: 1) estiércol vacuno, 2) estiércol de conejo, 3) estiércol de carnero, 4) cachaza y 5) pulpa de café. El ensayo se estableció en canaletas de cemento de 2.72 m², divididas en ocho secciones de 0.34 m² cada una, con un sistema de drenaje para la colección de los lixiviados, y se organizó como un diseño de bloques al azar con dos factores: A (Tipo de sustrato) y B (Niveles de Humedad), con el factor B como una “subparcela” de A, cada tratamiento se replicó cuatro veces. Todos los residuales antes de su uso para la alimentación de las lombrices, fueron adecuados según Martínez *et al.* (2003), realizándose de rigor la prueba de caja descrita por los propios autores, antes de la alimentación.

En cada canaleta se dispuso el residual previamente adecuado en una capa de 10 cm, y se le adicionó agua lentamente para lograr una humedad homogénea hasta la saturación del sustrato y se dejó en reposo hasta que finalizó el drenaje. Posteriormente se realizó un muestreo diario hasta que los residuales alcanzaron el 85% de humedad, una vez que el residual alcanzó esta humedad se le adicionaron 1000 lombrices (juveniles y adultas) a cada réplica. Posteriormente se tapó la superficie de la canaleta para evitar la pérdida de agua por evaporación.

A los sustratos en la variante del control de la humedad por el método gravimétrico (MG), se le determinó diariamente el contenido de agua en estufa a 105 °C por 24 h y se aplicó el riego en dosis suficiente para mantener el sustrato entre el 75-85% de humedad, realizando el riego sólo cuando la humedad estaba por debajo del rango.

En la otra variante estudiada (ME) se determinó el contenido de agua por el método del “puño”, descrito por Martínez *et al.* (2003), la cual consiste en tomar con la mano una porción del sustrato, si al cerrar el puño salen gotas de agua entre los dedos, significa que la humedad es la adecuada, si sale un chorro hay exceso de humedad y si por el contrario no sale agua, entonces no existe la humedad requerida.

En ambos casos se cuantificó el agua aplicada para el riego y el lixiviado. Al lixiviado se le realizó la caracterización microbiológica (coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella* ssp.), según los métodos empleados en el Instituto de Suelos y el Laboratorio de Microbiología del INHEM respectivamente.

Con el humus final producido en cada tratamiento, se preparó una solución acuosa o, “Humus Líquido” (HL), según lo recomendado por Forbes *et al.*, 2003, de acuerdo a esta metodología se tomó una parte de humus la que se disolvió en ocho partes

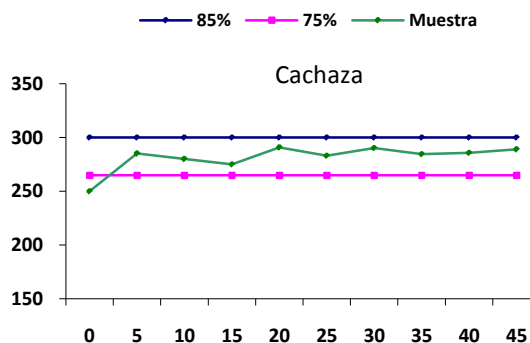
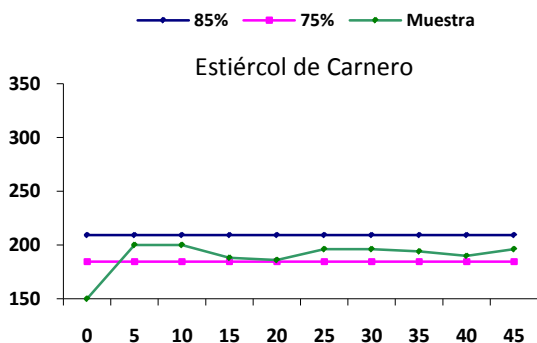
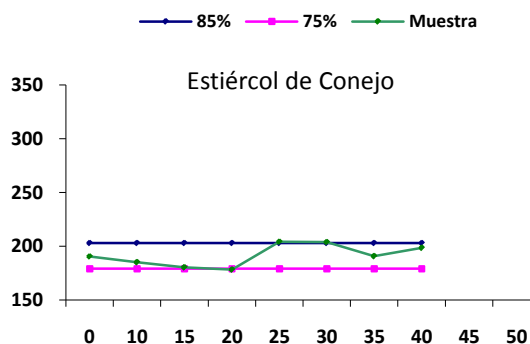
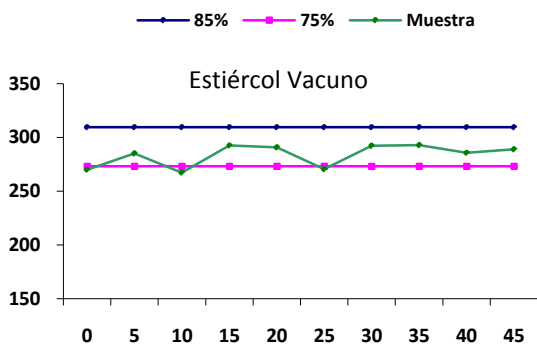
de agua, se agitó durante 20 minutos y se dejó reposar durante 24 horas, esta solución se le consideró HL. Para el análisis las muestras se enviaron al INHEM, donde se determinó: 1) coliformes totales, 2) coliformes fecales y 3) *Salmonella* spp siguiendo las siguientes metodologías.

Los coliformes totales y fecales se determinaron cuantitativamente empleando la técnica de fermentación en tubos múltiples de 100 ml de volumen, utilizando el método del Número Más Probable (NMP), la presencia de *Salmonella* spp. se determinó cualitativamente por la técnica de filtración por membrana. El procesamiento de las muestras se realizó según: NC 93-01-128: 1998, ISO 9308-2:1990 e ISO 6340: 1995.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación del Límite Superior de Humedad (LSH).

En la Figura 1 se observa la dinámica de la humedad en los residuales estudiados al transcurrir el tiempo. El LSH fue mayor en el estiércol vacuno y cachaza lo que pudiera estar relacionado con las características físicas del residual, lo que facilita una mayor absorción de agua en las estructuras orgánicas que lo conforman, esto indica que habría que utilizar un mayor volumen de agua para mantener la humedad óptima recomendada para el cultivo de lombrices en estos residuales.



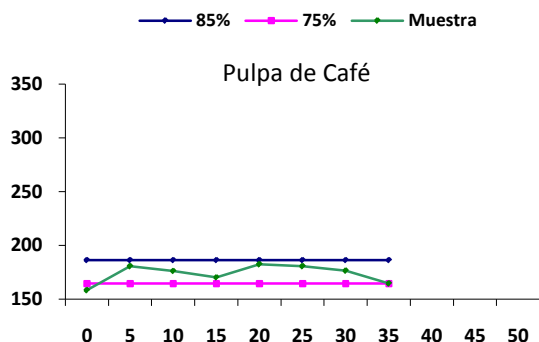


Figura 1. Dinámica de la humedad gravimétrica durante el proceso de transformación a humus de los diferentes residuales estudiados. Eje Y, Humedad gravimétrica en %; Eje X, días de muestreos hasta la cosecha del humus.

La Tabla 1 muestra los niveles de microorganismos patógenos presentes en el lixiviado producido durante el experimento. Estos resultaron elevados para el lixiviado obtenido en las variantes de estiércol vacuno, estiércol de conejo y estiércol de carnero, de acuerdo a lo reportado por la Organización Mundial para la Salud (OMS) en el año 2003, por la norma mexicana (NMX-FF-109-

SCFI) del año 2007 y por la Norma Cubana (NC: 2013), donde se establecen a los coliformes fecales como indicadores de la calidad microbiológica de las aguas, recomendándose que la presencia de los mismos debe ser $\leq 1000 \times 100 \text{ml}^{-1}$ para considerar el agua de riego de calidad para su uso.

Tabla 1. Indicadores de contaminación fecal presentes en el lixiviado producido durante el sistema de lombricultura.

Lixiviado	Coliformes totales	Coliformes fecales	Salmonella ssp.
	NMPx100 ml ⁻¹		
Estiércol Vacuno	≥ 1600	≥ 1600	A
Estiércol de Conejo.	≥ 1600	≥ 1600	A
Estiércol de Carnero.	≥ 1600	≥ 1600	A
Pulpa de Café	70	70	A

NMP: Número más probable. A: ausencia

Los resultados anteriores nos sugieren la necesidad de continuar los estudios relacionados con la presencia de patógenos en los lixiviados pues trabajos realizados por Franz (2007) reportaron la habilidad de los microorganismos patógenos de internarse en los tejidos de frutas y hortalizas, por lo que podría representar un riesgo para la salud humana.

En la Tabla 2 se muestran los valores de microorganismos patógenos presentes en la solución acuosa de humus de lombriz (humus líquido). Se puede apreciar que ocurrió una disminución muy notable para las dos variantes de tratamiento utilizadas en el experimento, lo cual es lógico si tenemos en cuenta lo señalado por

Eastman (2001) y Schuldt (2003), referente a que las lombrices poseen una acción bactericida sobre los colibacilos patógenos.

De manera general se puede apreciar que los niveles de microorganismos patógenos encontradas en la solución acuosa de humus de lombriz preparado a partir del humus son bajos y por debajo de las regulaciones emitidas por la

OMS, 2003, NMX-FF-109-SCFI, 2007 y NC-2013 para el uso agrícola de estos productos; por lo que puede ser utilizado para la fertilización de cualquier cultivo, sólo se recomienda siempre que sea posible el monitoreo periódico del mismo y que se cumpla estrictamente la disciplina tecnológica del cultivo.

Tabla 2. Indicadores de contaminación fecal (NMPx100 ml⁻¹ de *Escherichia coli*) presente la solución acuosa de humus de lombriz en las variantes de riego estudiadas. (Prom. ± I.C).

Humus Líquido	MG	ME
Estiércol Vacuno	301.0±1.2	2.0±1.50
Estiércol de Conejo	18.0±0.1	7.5±2.42
Estiércol de Carnero	4.8±1.1	3.0±0.67
Cachaza	14.5±1.9	17.0±0.67
Pulpa de Café	18.0±0.1	18.0±0.10

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Artavia, S.; Uribe, L.; Saborío, F.; Arauz, L. y Castro, L. (2010): Efecto de la aplicación de abonos orgánicos en la supresión de *Pythium myriotylum* en plantas de tiquisque (*Xanthosoma sagittifolium*). *Agronomía Costarricense*, 34(1): 17-29. ISSN:0377-9424

Beuchat, L. R. (1997): Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *Journal of Food Protection*, 59: 204-216.

Chávez, A.; Rodríguez, A. y González, F. (2013 a): Análisis de la dinámica biológica presente en un sistema piloto de lombricultura para el manejo de biosólidos provenientes de aguas residuales. *Rev Ingenierías Universidad de*

Medellín, 12 (22): 13 – 24, ISSN 1692 - 3324. Medellín, Colombia.

Chávez, C. y Fuentes, A. (2013 b): Determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos del lixiviado obtenido del estiércol de bovino utilizando *Eisenia foetida* (lombriz roja californiana). Tesis para optar por el título de Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador.

Eastman, B., Kane, P., Edwards, C., Trytek, B., Stermer, A. and Mobley, J. (2001): The Effectiveness of Vermiculture in Human Pathogen Reduction for USEPA Biosolids Stabilization. *Compost Science & Utilization*, 9 (1): 38-49.

- Forbes, T.; Martínez, F.; Valdés, M. y Ana Bahamonde (2003): Consideraciones sobre el uso de las disoluciones acuosas de humus de lombriz como fertirriego en cultivos de bajos insumos. Congreso Internacional de Riego y Drenaje. Cuba Riego 2003.
- Franz, E (2007): Ecology and Risk Assessment of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in the Primary Production Chain of Lettuce. Doctoral thesis, Biological Farming Systems group, Wageningen University, the Netherlands.
- García, C. (2008): Valoración de las características del humus de lombriz formado a partir de los residuales sólidos orgánicos urbanos tratados mediante la lombricultura. Tesis presentada en Opción al Título de Máster en Ciencias del Suelo. Mención: Biología de Suelos.
- ISO 6340: 1995. Water-quality-detection of *Salmonella* species.
- ISO 9308-2: 290. Water-quality-detection and enumeration of coliform organisms, thermotolerant coliform organisms and presumptive *Escherichia coli*, Part 2: Multiple tube (most probable number) method.
- Langen, C.; Hernández, A.; Santoyo, R.; Gómez, E.; Gómez, L.; Maldonado, R. y Cruz, J. (2011): Calidad microbiológica de abonos orgánicos Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia. Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 – 6 (2).
- Martínez, F., B. Calero, R. Nogales y L. Rovesti (2003): Lombricultura. Manual Práctico. Ciudad de La Habana. 100 pp. Eds. Calero, B y Rovesti,
- Mitchell, M.J. (1978): Role of invertebrates and microorganisms in sludge decomposition. En: Hartenstein, R. (ed). Utilization of Soil Organisms in Sludge Management. Natl. Tech. Inf. Services, PB286932, Springfield, Virginia, pp. 35-50.
- Monge, C., Chaves, C. y Arias, M. (2011): Comparación de la calidad bacteriológica de la lechuga (*Lactuca sativa*) producida en Costa Rica mediante cultivo tradicional, orgánico o hidropónico Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 61 (1).
- Morales, A. (2008): Efecto del empleo de residuales sólidos orgánicos convencionales y no convencionales en la población de *Eisenia foetida* durante el proceso de lombricultura. Tesis presentada en Opción al Título de Máster en Ciencias del Suelo. Mención: Biología de Suelos.
- NC 93-01-128: 1988. Determinación del número más probable de Coliformes totales y fecales.
- NC-2013: Reutilización de aguas residuales tratadas. Especificaciones
- NMX-FF-109-SCFI-2007: Humus de lombriz (LOMBRICOMPOSTA) – Especificaciones y métodos de prueba.
- Organización Mundial de la Salud. (2003): Directrices sanitarias sobre el uso de agua residuales en agricultura y acuicultura, Informe de un Grupo Científico de la OMS. Serie de Informes Técnicos 778. Ginebra.
- Peña, E. (2009): La lombricultura como alternativa de descontaminación ambiental y de nutrición. En: Manual de Lombricultura. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt". Santiago de las Vegas, 26-30.
- Reines, M, Loza, J y S. Honorio (2004): Lombricultura. Una Biotecnología para la

- sustentabilidad. Guadalajara: Universidad de Guadalajara ISBN: 970-27. 0636-X, 2004
- Sandoval, F. (2011): Degradación de lodos residuales provenientes del tratamiento de aguas residuales municipales por medio de la vermicomposta para obtener humus líquido. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ingeniería Civil. México DF.
- Schuldt, M. (2003): "Lombricultura y Residuos Domiciliarios". Rev. Patagonia, No. 1, pp 18.
- Semenas, L. (2012): Patógenos en residuos orgánicos. Compostaje en la Argentina: Experiencias de producción, calidad y uso. 1era ed. – Buenos Aires: Orientación Gráfica Editora 348 p. ISBN 978-987-9260-93-7
- USEPA (2011): Problem formulation for human health risk assessments of pathogens in land applied biosolids. National Center for Environmental Assessment, Cincinnati, Ohio, EEUU. EPA/600/R-08/035F. 150 pp.

Fecha recibido: 19 de febrero de 2014.

Fecha aceptado: 23 de abril de 2014.