

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE MICROBIOLOGIA**

**DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ABONO
ORGANICO BOCASHI DURANTE EL PROCESO DE FABRICACION Y
ALMACENAMIENTO.**

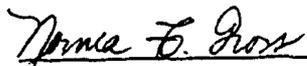
**TRABAJO DE INVESTIGACION COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR
POR EL TÍTULO DE LICENCIADA EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA
Y GRADO PROFESIONAL DE DOCTORA EN MICROBIOLOGÍA
Y QUÍMICA CLÍNICA.**

PATRICIA BALTODANO HERNANDEZ

JULIO, 2002

Informe Final de Práctica Dirigida de Graduación presentado a la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el Título de Licenciada en Microbiología y Química Clínica y grado profesional de Doctora en Microbiología y Química Clínica.

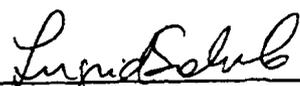
El Tribunal Examinador estuvo integrado por los siguientes miembros:



Dra. Norma Gross Martínez
Presidenta



Ing. Oscar Acuña Navarro



Dra. Ingrid Salas Campos



Ing. Jorge Briceño Salazar



Dr. Julio García Fernández

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor, Ingeniero Oscar Acuña Navarro, por su apoyo, colaboración y paciencia durante la realización de este trabajo.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEORICO	4
Microorganismos	4
Materias Primas	5
La Relación Carbono: Nitrógeno (C:N)	8
Aireación	9
Humedad	
Temperatura	10
Principales Abonos Orgánicos	11
Compost	12
Lombricompost	14
Bocashi	16
Determinación de la madurez del Bocashi	17
OBJETIVO GENERAL	21
OBJETIVOS ESPECIFICOS	21
METODOLOGIA	22
Ubicación de la Investigación	22
Tratamientos Evaluados	22
Recuento de las poblaciones de Bacterias, Actinomicetes y Hongos	23
Identificación de Hongos	23
Efecto de la temperatura y humedad del Bocashi sobre las poblaciones microbianas.	24
Contenido de Nitrógeno, Carbono, Relación C:N y Materia Orgánica del Bocashi	24

RESULTADOS Y DISCUSION	25
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFIA	35
ANEXO	38

RESUMEN

Baltodano Hernández, Patricia. Determinación de la calidad microbiológica del abono orgánico Bocashi durante el proceso de fabricación y almacenamiento. Tesis Microbiología. San José, Costa Rica. 2002. 39p.

El Bocashi es un abono orgánico que, además de utilizar para su elaboración materia orgánica proveniente de diferentes desechos, se aplica una dosis de microorganismos eficientes (EM) con el fin de acelerar el proceso de maduración. La calidad del abono va a depender de varios factores, entre los que se encuentran: humedad, temperatura, porcentaje de carbono y nitrógeno y la relación carbono:nitrógeno, ya que estos van a estar directamente relacionados con la actividad microbiológica encargada de la descomposición de la materia prima orgánica. Para evaluar los factores antes mencionados, se utilizó bocashi sin EM como control y bocashi más EM. Se observó que la aplicación de EM tuvo un efecto mayor en la población de hongos y de los géneros que se encuentran en este producto, es el *Aspergillus* s.p. el que mejor se adapta a las condiciones de elaboración del abono. Las temperaturas altas, así como el descenso en la humedad, tienen como resultado la disminución de las diferentes poblaciones de microorganismos. Además, la determinación del carbono fue importante para conocer el grado de descomposición de los materiales empleados y la de nitrógeno permitió definir el momento en que hay mayor disponibilidad de este elemento para que pueda ser utilizado por las plantas. En todos los casos, se obtuvo mejores resultados en el bocashi que contenía EM que en el control, demostrando que la aplicación de este producto es útil para obtener un abono de mejor calidad.

ABONO, ABONOS ORGANICOS, BOCASHI.

Ing. Oscar Acuña Navarro. Centro de Investigaciones Agronómicas. Facultad de Ciencias Agroalimentarias.

INTRODUCCION

La agricultura es una práctica en donde el ser humano interacciona con el ambiente y transforma el sistema natural para obtener sus productos. Esa transformación pretende aumentar la productividad, pero conlleva a una alteración de los ciclos naturales.

El desarrollo de los fertilizantes y de los plaguicidas ha permitido la obtención de grandes cantidades de alimento, pero el abuso de su utilización ha generado serios problemas como la pérdida de fertilidad de los suelos y la aparición de plagas y enfermedades resistentes. Además, ha provocado en muchas regiones de los países en desarrollo una pérdida de la diversidad biológica, una disminución de los recursos naturales y un acelerado proceso de contaminación del suelo y del agua que pone en peligro la salud humana y de los animales, así como la seguridad y calidad nutricional de los alimentos. (Higa T.; Parr, J. 1994)

Lo mencionado anteriormente, se manifiesta en un rendimiento decreciente de los suelos, una reducción de superficies apropiadas para la agricultura y una disminución en los ingresos, causando así grandes pérdidas económicas y sociales a la población. Por todo esto, se ha buscado sustituir el uso de abonos químicos por insumos de origen orgánico provenientes de diferentes desechos como residuos de las cosechas y estiércol de animales, que se pueden aplicar al suelo y sirven como fuentes de carbono, energía y nutrientes. (Higa T.; Parr, J. 1994)

Se puede lograr un incremento en la productividad agrícola y un mejoramiento de las condiciones ambientales, biológicas y nutricionales de los suelos utilizando estos materiales que fueron depositados durante muchos años en ríos, basureros o eran enterrados o quemados creando así un grave problema de contaminación. Esto ha motivado varias investigaciones dirigidas a la búsqueda de nuevas opciones de manejo de estos residuos, dentro de las cuales las que han dado mejores resultados y

se están utilizando en el ámbito nacional e internacional son las relacionadas con el compostaje que es un proceso biooxidativo en donde, por descomposición aeróbica de la materia orgánica, se obtienen nutrientes, humus y dióxido de carbono, cuyo valor nutricional y potencial como mejorador de suelos ya se ha reconocido.

La base fundamental de la agricultura es el suelo, el desarrollo y crecimiento de las plantas va a depender de las características físico-químicas y biológicas de éste como lo es el contenido de nutrientes, de minerales, la textura, la porosidad, el pH y el contenido de agua de los diferentes tipos de suelos, pero en especial de la microflora que posea, principalmente la que se encuentra cercana a las raíces. Esta región es conocida como Rizosfera, en donde los microorganismos predominantes son las bacterias, cuyo crecimiento es estimulado por nutrientes como aminoácidos y vitaminas que provienen de los tejidos de las raíces (Pelczar *et al*, 1993).

En los últimos años, se ha dado una revalorización de la biología de suelos, como un componente importante en los sistemas de producción y se han empezado a utilizar prácticas en el manejo de las fincas que permitan restablecer la vida del suelo. La adición de materia orgánica de una u otra forma (como la pulpa de café, la cachaza o gallinaza) y la adición de compost, bocashi o lombricompost son unas de las alternativas con las que se pretende restablecer la vida del suelo. Estos materiales presentan las ventajas de favorecer la vida microbiana, a través de una mayor aireación y la diversificación de sustratos, dándole una mayor estabilidad al sistema suelo.

Es importante tomar en cuenta el motivo por el cual se quiera procesar los desechos orgánicos para así definir el sistema de compostaje que se quiera utilizar. En Estados Unidos, la producción de compost se ha enfocado en el manejo de desechos y no en la producción de abonos para el mejoramiento de suelos. No es sino hasta fechas recientes (Toffey, 1998) que los productores de compost han reconocido el negocio potencial en la producción de compost para agricultura, especialmente

horticultura y jardines. Por ejemplo en el estado de Filadelfia en Estados Unidos, de las 230,000 toneladas de biosólidos que se producen en plantas de tratamiento de aguas, una tercera parte es composteada a través de un sistema de pila de volteo, compost, que es vendido a los productores agrícolas (Toffey, 1998).

En Costa Rica, el uso de abonos orgánicos se inició especialmente entre los productores orgánicos del país, consecuentes con el principio fundamental que establece el mejoramiento de suelos como la base para el desarrollo de este sistema de producción. En la implementación y uso de los abonos en nuestro país, tuvo gran impacto la tecnología japonesa de producción de "bocashi" fomentada por el Ing. Shogo Sasaki del Servicio de Voluntarios Japoneses para la Cooperación con el Extranjero (Soto, 2001). Esta tecnología ha sido ampliamente distribuída en el país por el Instituto Nacional de Aprendizaje (INA).

Otro factor que ha favorecido el desarrollo de la producción de abonos orgánicos del país ha sido la regulación en el manejo de los desechos del beneficiado del café que llevó a los beneficiadores a buscar opciones de manejo para la broza del café.

No ha sido sino hasta que los abonos orgánicos han sido popularizados por los productores orgánicos, que algunos productores convencionales han mostrado interés al reconocer sus ventajas al nivel de suelo y como una opción para el manejo de desechos. Esta popularización en el uso de abonos orgánicos que nace entre productores, ha generado una serie de confusiones en la terminología utilizada para denominar las diferentes formas de abonos orgánicos, los procesos que los originan y los parámetros establecidos para determinar su madurez y calidad, de tal forma que se encuentren en el mercado abonos que respondan a las exigencias de los cultivos y productores. De allí, que es importante conocer las características básicas de los diferentes abonos orgánicos generados en el país, sus procesos de fabricación y los mecanismos para medir la calidad del producto final.

MARCO TEORICO

Durante el proceso de elaboración de abonos orgánicos se deben tomar en cuenta aspectos relacionados con la naturaleza y constitución de las materias primas que se van a emplear y de las variaciones fisico-químicas y biológicas que se van presentando a través del tiempo de descomposición y maduración de los abonos. Dado que durante el proceso de descomposición predominan etapas aeróbicas, mesofílicas y termofílicas, las prácticas de manejo deben crear condiciones óptimas para el establecimiento y desarrollo de los microorganismos involucrados en las diferentes etapas, así como suplir condiciones nutricionales y energéticas favorables para la multiplicación de estos.

Las condiciones que favorecen el crecimiento de los microorganismos aeróbicos son: presencia de oxígeno, temperatura, agua y una nutrición balanceada, obtenida de acuerdo con las características propias de las materias primas y con la relación carbono:nitrógeno (C:N). Hay otros factores que también pueden afectar su desarrollo tales como: pH, fuentes energéticas de fácil solubilización como azúcares simples y superficie de contacto o tamaño de partícula.

Microorganismos:

Los microorganismos son los responsables de la tasa de descomposición de los residuos orgánicos en los diferentes procesos de fabricación de abonos. Su actividad y biodiversidad dependerán de la constitución del sustrato a descomponer, su relación C:N, su disponibilidad de fuentes nutritivas y energéticas y del efecto de factores del medio generados por el proceso como lo son la temperatura, humedad y aireación.

Los principales grupos de microorganismos involucrados en los procesos son las bacterias, los actinomicetes y los hongos. Las bacterias constituyen uno de los grupos más abundantes y variados en los suelos y residuos orgánicos, dentro de sus funciones están la descomposición de los materiales orgánicos, tanto en condiciones

aeróbicas como anaeróbicas, participan activamente en los ciclos de algunos elementos como el nitrógeno y el azufre (Alexander, 1977) y juegan un papel muy importante en la fase termofílica del proceso de compostaje (Paul y Clark, 1996; Guerrero, 1993). Los actinomicetes forman parte de un grupo intermedio entre bacterias y hongos, con características comunes de ambos, son muy importantes en la descomposición de sustancias altamente resistentes como hemicelulosas y quitinas, tienen un papel muy activo en la producción de humus y mantienen un equilibrio entre las diversas poblaciones de microorganismos por su producción de antibióticos, además son muy adaptables a cambios bruscos en temperatura y humedad de los sustratos orgánicos (Alexander, 1977; Guerrero, 1993). El otro grupo de microorganismos lo conforman los hongos, que se encuentran en menor número en los sustratos orgánicos, sin embargo son muy importantes porque inician la cadena de descomposición de sustratos orgánicos por su capacidad de producción de sustancias enzimáticas que producen la ruptura de compuestos altamente lignificados.

1- Materias primas disponibles:

Las materias primas disponibles y su constitución son aspectos básicos en la elaboración de abonos orgánicos, ya que de esto dependerá la velocidad de descomposición o tasa de mineralización gobernada por la actividad microbiológica y la posterior disponibilidad de nutrientes. Los principales componentes de los sustratos orgánicos son celulosas, hemicelulosas, ligninas, azúcares y compuestos nitrogenados (Alexander, 1977; Lynch, 1993; Paul *et.al.*, 1996), los cuales tienen diferentes velocidades de descomposición dependiendo de su constitución estructural y la facilidad al ataque de los microorganismos.

En Costa Rica las fuentes más accesibles que se tienen son las excretas de animales en general (gallinaza, estiércol de caballo, boñiga, etc.), la broza del café, residuos del procesamiento de la caña de azúcar, residuos de extracción de aceite de palma, residuos del procesamiento de vegetales y frutas, residuos de pescado y desechos de la matanza de animales. Cada uno de éstos materiales presenta

características físico-químicas y biológicas que afectarán el proceso de elaboración de los abonos para el cual se utilice, de allí que la escogencia de las fuentes o materias primas para formular un abono dependerá de su disponibilidad y su aporte nutricional, así como su tasa de mineralización. El siguiente cuadro presenta las diferencias en cuanto al contenido de nutrientes de diferentes materiales orgánicos.

Cuadro 1. Contenido de nutrientes de algunos desechos de la agroindustria en Costa Rica.

Material	%					mg/Kg			
	N	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	Mn
Broza del café	2.0-3,2	0,3	4,3	1,8	0,4	590	30	22	94
Cachaza	1,3	0,7	2,0	0,2	0,4	15700	73	116	519
Pulpa de naranja	0.84– 1.0	0,11	0,5	0,09	1,0	45	9	16	11
Pulpa de piña	0,81	0,12	0,4	0,15	1,22	366	10	14,7	86
Banano de rechazo	0.8	0.58	0,45	0,4	6,45	194	5,8	13	63
Pinzote de banano	0.9-1.5	0.13	0.4	0.2	8.2	85	17	14	75
Vinazas	0,4	0,1	1,1	0,6	4,9	1567	44	127	81
Gallinaza	1.0-3,0	1,4	2,6	0,75	2,5	325	44	315	330
Estiércol vacuno*	1.6	1.2	2.2	1.1	1.8	-	-	-	-
Porquinaza*	1.8	2.6	2.0	0.2	2.1	-	-	-	-
Harina de pescado	9.5	7.0	8.5	0.5	-	-	-	-	-
Sangre seca*	13.0	2.0	0.5	-	1.0	-	-	-	-

* tomados de Bertsch, 1995.

Muchas de las materias primas se utilizan como fuente de nitrógeno, donde la más empleada es la gallinaza por su mayor disponibilidad y manejo. Otras fuentes de

nitrógeno empleadas son la harina de sangre o de pescado, sin embargo son de un alto costo económico y disponibles solo en pequeños volúmenes. Ensayos comparativos de fuentes de nitrógeno orgánicas con fertilizantes han demostrado que, en general, se alcanzan temperaturas más altas y el producto final es de mejor calidad cuando se utilizan fuentes naturales de nitrógeno (Reis *et al.*, 1999).

Otras posibles fuentes de nitrógeno son las leguminosas las cuales, por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, incorporan grandes cantidades de este elemento en sus tejidos que luego pueden incorporar al suelo a través de su descomposición. Estas son utilizadas sobretodo por pequeños productores con muy buenos resultados, pero a gran escala se dificulta su disponibilidad en los volúmenes requeridos.

Otras materias primas son utilizadas en la elaboración de abonos orgánicos porque, además de presentar un alto contenido de nitrógeno, contienen buena cantidad de azúcares, agua, fuentes de carbono y un tamaño de partícula adecuado. Dentro de éstas se encuentra la broza de café, éste material el único inconveniente que presenta son los bajos contenidos de fósforo, que deben ser suplidos con algunas otras fuentes. La cachaza y los subproductos del procesado del azúcar, son los materiales que presentan los más altos contenidos de fósforo, por lo que la mezcla cachaza-broza da un material final de muy buena calidad. Este material también es ideal para el compostaje, presenta el tamaño de partícula adecuado, pH y contenido de azúcares y fósforo. Una fuente externa de nitrógeno puede ser adicionado, pero no es indispensable (Soto, 2001).

Los residuos generados por banano de rechazo y pinzote son altos en potasio, pero bajos en nitrógeno y fósforo. Sin embargo, su alto contenido de almidones lo hace un producto de fácil descomposición. En el composteo de banano ha trabajado especialmente Corporación Bananera Nacional (CORBANA), la Escuela de Agricultura de la Región del Trópico Húmedo (EARTH) y las compañías bananeras en general. Las pulpas de naranja y de piña presentan limitaciones desde el punto de

vista del pH, ya que ambas tienen un pH inicial entre 3 y 3.5, lo que genera una alta acidéz del sustrato afectando así la actividad microbiológica.

2- La Relación carbono: nitrógeno (C:N)

La relación C:N se determina por las cantidades de carbono y nitrógeno contenidas en los diferentes materiales que se utilizan para desarrollar un abono orgánico. Una buena relación C:N es importante para suplir un buen sustrato para el desarrollo de los microorganismos, lo que a final acelera el proceso de descomposición y mejora la calidad del producto final. La mejor relación para una óptima actividad microbiológica es de 10-15:1 (Lynch, 1993), con rango aceptable entre 20:1 y 40: 1 (Rynk, 1992)

Conociendo la estructura molecular de los organismos que hacen el compost, se evidencia que tipo de sustrato es preferido por los diferentes organismos. Por ejemplo, las bacterias, presentan un contenido proteínico mucho mayor que los hongos, llegando a ser hasta el 55% de su peso, mientras que los hongos como *Aspergillus*, tienen en su pared celular un 53% de glucosa y 19 % de quitina. Las bacterias requerirán de sustratos con contenidos de nitrógeno más altos que los hongos, mientras que estos últimos se encargan de la descomposición de sustratos más recalcitrantes como la celulosa y la lignina (Crawford, 1981; Lynch, 1993; Soto, 2001).

Relaciones C:N muy altas, ocasionan que el proceso de descomposición sea más lento. Relaciones C:N muy bajas, hacen que se pierda nitrógeno por falta de estructuras de carbono que permiten retenerlo. En el caso de la gallinaza, especialmente, se ha visto que en la primera semana se puede perder por volatilización hasta el 85% del amonio, si el manejo y la mezcla no son las adecuadas (Hansen *et al.*, 1993).

3- Aireación

Otro factor determinante para obtener un producto de buena calidad a corto plazo es la presencia de oxígeno durante el proceso de compostaje, especialmente en las fases iniciales del proceso, ya que es en este momento donde hay gran actividad biológica, principalmente de organismos que requieren oxígeno (Chapman, 1992). Para favorecer una buena oxigenación se debe realizar un volteo frecuente, controlar el tamaño de partícula adecuado, mezclar, en la receta del abono, materiales que permitan una buena oxigenación y manejo adecuado del agua.

La frecuencia de volteo debe estar determinada por la presencia de oxígeno. Para esto, se han diseñado equipos para medir la presencia de oxígeno directamente en interior de la pila de compost, o en su defecto la presencia de CO₂. Se recomienda voltear cuando la concentración de CO₂ esté por encima del 8% (Rynk, 1992). Si no se cuenta con el equipo adecuado, la frecuencia de volteo puede estar determinada por la temperatura, que es un indicador directo de la actividad microbiológica (Haug, 1986).

Uno de los problemas más comunes que se encuentran por el mal manejo de la compostera es el de las moscas, el cual puede ser evitado a través del volteo frecuente de las pilas de por lo menos 1 metro de alto.

Hay otros sistemas pasivos utilizados para la oxigenación de los materiales durante el proceso de maduración como lo son la aireación por tubería o a través de ventiladores colocados en la parte inferior de las camas de compost. Estos sistemas funcionan efectivamente, pero son más costosos y el proceso se torna un poco más lento.

Es claro, que aunque en la generación de abonos orgánicos se tiene un proceso predominantemente aeróbico, se tienen también condiciones de anaerobiosis. Los microorganismos anaeróbicos son menos eficientes en su metabolismo, por lo que el

proceso anaeróbico es más lento que el aeróbico. Una gran desventaja que presenta el proceso anaeróbico es la presencia de malos olores, ya que los olores son generados en su gran parte por condiciones de reducción. Se determinó que los malos olores se pueden generar por la producción de ácidos grasos volátiles durante la descomposición de azúcares simples y la producción de amoníaco y sulfitos durante la descomposición de proteínas en condiciones anaeróbicas (Miller, 1993). Sin embargo, es posible manejar la mayoría de estos olores a través de un buen proceso de oxigenación con factores como el tamaño de partícula, la distribución de las partículas y volteos frecuentes.

4- Humedad:

Un factor importante a tomar en cuenta para el éxito del proceso de fabricación de abonos orgánicos es la humedad. Se debe adicionar suficiente agua como para favorecer la solubilización de los materiales y la actividad microbiana. Sin embargo, no se debe agregar tanta agua que se favorezcan condiciones anaeróbicas o lavado de nutrientes. Los valores óptimos de humedad durante el proceso están entre 40 y 65% (Rynk, 1992)

El proceso desarrollado a cielo abierto y en época lluviosa acumula grandes cantidades de agua en los materiales orgánicos, ocasionando así problemas de reducción, putrefacción, malos olores y pérdidas de nutrientes, especialmente nitrógeno y potasio.

En el proceso del bocashi, la temperatura desciende al producirse el secado del material. En presencia de agua, al ser utilizado de nuevo en el campo, el bocashi se calentará nuevamente y los microorganismos tendrán, otra vez, las condiciones óptimas para su desarrollo (Schulze, 1961).

El acúmulo de humedad en los abonos se puede corregir a través de volteos frecuentes, por evaporación cuando se presentan altas temperaturas y con la elaboración de los abonos bajo techo.

5- Temperatura:

La mayoría de los materiales empleados para la elaboración de abonos orgánicos generan calor durante el proceso de maduración, principalmente cuando alcanzan la fase termofílica, en donde las temperaturas pueden alcanzar los 65-70°C. Estas temperaturas se originan por la evaporación del agua y la posterior generación de calor, en donde se presentan varias reacciones bioquímicas (Keener *et.al.*, 1993).

Varios investigadores (Bach *et.al.*, 1987; McKinley *et.al.*, 1984) encontraron que los rangos óptimos para los procesos de compostaje están entre 35 y 60°C, en donde se tiene un efecto inhibitorio de patógenos de humanos y de plantas a temperaturas mayores a 55°C, la máxima biodegradación a temperaturas entre 45 y 55°C y una mayor diversidad microbiana entre los 30 y 40°C. Las temperaturas altas decrecen la tasa de mineralización y el número de especies de microorganismos presentes. Es sumamente difícil mantener temperaturas constantes durante todo el proceso de elaboración de abonos, principalmente por variaciones en el contenido de humedad, la aireación y la altura de las camas.

Todos los factores anteriormente mencionados deben ser tomados en cuenta cuando se trate de formular y desarrollar los diferentes abonos orgánicos para su uso en la producción agrícola.

PRINCIPALES ABONOS ORGANICOS:

Se entiende por abono orgánico todo material de origen orgánico utilizado para la fertilización de cultivos o como mejorador de suelos. Se incluyen dentro de éstos abonos materiales como la gallinaza, la broza del café, extractos de plantas, coberturas, abonos verdes, compost, bocashi, lombricompost y ácidos húmicos. Dentro de éstos se encuentran aquellos abonos que se pueden utilizar en la agricultura orgánica, los cuales están regulados por las normas internacionales de certificación. No todos los abonos orgánicos puede ser utilizados en agricultura orgánica, por ejemplo, el uso de excretas de animales totalmente estabulados está prohibido por la regulación europea (Ley 2092/91). Los ácidos húmicos permitidos son solo aquellos cuyo extractante haya sido KOH o NaOH , según los parámetros de OMRI. Por el contrario, enmiendas como el carbonato de calcio o fertilizantes como la roca fosfórica que aunque no son abonos orgánicos, son permitidos en agricultura orgánica.

EI COMPOST:

El compost es un proceso biooxidativo controlado que involucra materiales orgánicos heterogéneos en estado sólido que se transforman a través de la descomposición aeróbica en nutrientes, humus y dióxido de carbono. Se denomina compost al producto resultante del proceso de compostaje. También se tiene el concepto de co-compostaje, el cual es un proceso de compostaje de lodos urbanos junto con otros residuos orgánicos sólidos.

El proceso de compostaje es una descomposición predominantemente aeróbica, en la que los substratos más lábiles son descompuestos más rápidamente por bacterias, hongos y actinomicetes mesófilos. Posteriormente, se da la descomposición de materiales más recalcitrantes como la lignina, por organismos termófilos, para pasar luego a la formación de sustancias húmicas en la fase de enfriamiento y

maduración (Fig. A). La condensación de los fenoles junto con el amonio en el proceso de humificación es tal vez la fase más importante en el proceso de compostaje. Medidas de la tasa de humificación muestran que no se da un aumento en el contenido de ácido húmicos y fúlvicos durante los primeros 15 días. Posteriormente, hay un fuerte incremento en el contenido de ácidos húmicos, lo que cambia la relación de ácidos húmicos a fúlvicos de 0.3:1 a 10:1 (Paul y Clark, 1996).

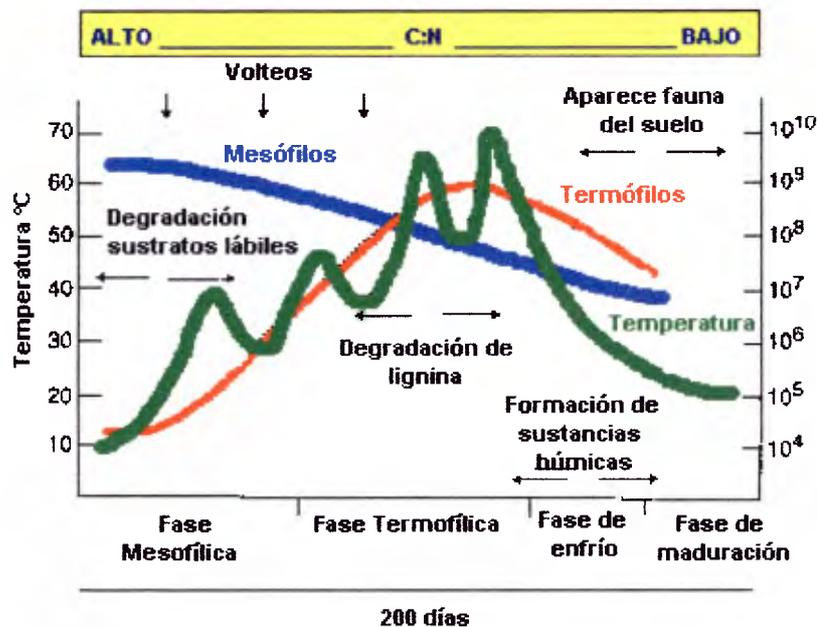


Fig. A. El proceso de compostaje (tomado de Paul y Clark, 1996).

Los organismos presentes durante el proceso de compostaje varían un poco dependiendo de los sustratos y las condiciones del proceso. Son sus interacciones y la secuencia en el tiempo los que determinan el tipo de compostaje. Bacterias y hongos se encargan de la fase mesófila, principalmente especies de bacterias del género *Bacillus*, aunque existen también algunos *Bacillus* termófilos. El 10% de la descomposición es realizado por bacterias, del 15-30% es realizado por actinomicetes. Después de que los materiales lábiles han desaparecido, los predominantes son los actinomicetes y las levaduras. Algunos actinomicetes están presentes inclusive en la

fase de formación de sustancias húmicas. Los hongos son los responsables por el 30 al 40% de la pérdida de peso en la compostera, su mayor actividad es en la fase de humificación (Paul y Clark, 1996).

Cuadro 2. Microorganismos que participan en el proceso de compostaje.

	Bacterias	Hongos	Actinomicetes
Fase mesofílica	<i>Bacillus brevis</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i>		
Fase termofílica	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	<i>Thermophyllum</i> ,	<i>Nocardia</i> , <i>sp.</i> <i>Streptomyces sp.</i> , <i>Thermoactynomicetes</i>
Fase de maduración		<i>Absidia</i> , <i>Mucor</i> , <i>Allescheria spp.</i> <i>Trichoderma</i> , <i>Penicillum</i> , <i>Aspergillus</i> , etc.	

(Tomado de Soto, 2001)

LOMBRICOMPOST:

Lombricompost, también conocido como vermicompost, es un proceso biológico de transformación de la materia orgánica a humus, a través de una descomposición aeróbica realizada principalmente por lombrices. Se conoce como Lombricultura la biotecnología orientada a la utilización de la lombriz de tierra como una herramienta de trabajo para el reciclaje de todo tipo de materia orgánica (Bollo, 1999). De las 8000 especies de lombrices que existen en el planeta, la lombriz californiana, *Eisenia foetida*, fue seleccionada por Tomas Barret en 1930 en Estados Unidos, por su alta capacidad de reproducción, su capacidad de vivir en altas densidades, el amplio rango

de desechos orgánicos de los que se alimenta y su adaptación a diferentes condiciones climáticas (Bollo, 1999) (cuadro 3)

Cuadro 3. Comparación de características de la lombriz californiana con un promedio de lombrices de otros géneros.

	Logenvidad (años)	Periodicidad de acoplamiento (días)	# de lombrices por cápsula
Eisenia foetida	16	7	2-21
Otras	4	45	1-4

(Tomado de Ferruzi, 1994).

Conociendo los requerimientos de hábitat de la lombriz, debemos crearle en la lombricera condiciones óptimas para su desarrollo.

En Costa Rica existen algunas lombriceras a gran escala (CoopeDota, CoopeCafira, Lombrítica, CoopeJorco, etc.), pero en su mayoría los productores manejan lombrices a pequeña escala. Algunos de estos productores crían sus lombrices en puro suelo con buenos resultados. Otros diseños utilizados incluyen el uso cajones de varios tamaños, con cedazos en el fondo para permitir el paso del agua y que esta no se acumule. Algunos productores están recolectando las aguas liberadas por este sistema para realizar aplicaciones foliares en sus cultivos con muy buenos resultados (Lombrítica, comunicación personal). Para realizar estas recolecciones, los cajones se elaboran con un fondo firme y una salida única donde se colecta el material.

Las lombrices prefieren condiciones de alta humedad relativa y sombra. Sin embargo, esta condición no es indispensable. A la hora de seleccionar el sitio para establecer una lombricera se debe contar con fuentes de agua limpia, distancia cercana a la producción de materia prima, manejo de lixiviados (elementos lavados por el agua) y disponibilidad de personal.

BOCASHI

El **BOCASHI** es una receta japonesa de producción de abono orgánico, de volteos frecuentes y temperaturas por debajo de los 45-50°C, hasta que la actividad microbiana disminuye al disminuir la humedad del material. Se considera un proceso de compostaje incompleto. Algunos autores lo han considerado un abono orgánico “fermentado” (Restrepo, 1996), sin embargo, es un proceso enteramente aeróbico. El Cuadro 4 presenta una comparación entre el proceso de compostaje y el de bocashi.

Cuadro 4. Comparación entre el proceso de compostaje y “bocashi”.

Características	COMPOST	BOCASHI
Producto final	Sustancias húmicas	Materia orgánica en descomposición.
Temperaturas máximas	65-70°C	45-50 °C
Humedad	60% durante todo el proceso	Inicial 60%, desciende rápidamente.
Frecuencia de volteo	Regida por temperatura y CO ₂	Una o dos veces al día (temperatura)
Duración del proceso	De 1 a 2 meses	De 1 a 2 semanas

Para acelerar el proceso de maduración del bocashi, algunos fabricantes han recurrido a la aplicación de microorganismos efectivos, los cuales permiten una mayor velocidad de descomposición de las materias primas orgánicas que lo conforman. Este tipo de microorganismos, conocidos como E.M., pueden ser utilizados como acondicionadores de suelo, descomponedores de materia orgánica y agentes de control de enfermedades. Estos productos se encuentran disponibles en el mercado y

se aplican, previo a un proceso de fermentación de 8 días, en forma líquida sobre los sustratos orgánicos.

Para garantizar a los productores una mayor eficacia en el uso del bocashi en sus cultivos, es sumamente importante el realizar estudios sobre el comportamiento de los microorganismos durante el proceso de fabricación, de tal forma que su actividad sirva como un índice para conocer la calidad final del producto.

DETERMINACION DE LA MADUREZ DEL BOCASHI

La madurez de los abonos orgánicos se define como el grado de descomposición de la materia orgánica durante el tiempo que se realiza el proceso. Es muy importante su determinación ya que permite indicar el momento adecuado para el empaque y su colocación en el mercado para su potencial utilización. Durante el proceso de maduración de los abonos orgánicos, la materia orgánica inicialmente inestable, es oxidada a formas estables y con menor posibilidad de degradación (sustancias húmicas), además de la producción de dióxido de carbono, minerales y agua. La estabilidad es una propiedad muy importante porque permite reducir problemas de materiales inmaduros como el recalentamiento, producción de olores y el deterioro de la calidad después del empaque y el almacenamiento. Para la aplicación de éstos abonos orgánicos, ya sea como acondicionadores de suelos o sustratos en medios de crecimiento, se requiere de una condición estable de los mismos.

La estabilidad se logra mediante mediciones de la madurez del producto, en donde se puede determinar el tiempo óptimo del proceso que asegure una alta calidad y eficacia en el uso del abono.

Para tener éxito en el proceso biooxidativo de compostaje del bocashi, se deben tomar en cuenta dos aspectos fundamentales: sustratos orgánicos heterogéneos en estado sólido y la presencia de los microorganismos, cuya actividad biológica es la

encargada de llevar a cabo la descomposición de la materia orgánica. Cuando no se realiza alguna de las actividades establecidas como la de volteos frecuentes, la actividad de los microorganismos se ve reducida por el aumento de la acidez y la acumulación de dióxido de carbono y otros gases orgánicos, provenientes de ácidos grasos, que producen toxicidad e inhiben la multiplicación de los microorganismos (Paletsky y Young, 1995).

Belete *et. al.* (2001) indicaron que los abonos orgánicos sufren cambios durante el proceso de maduración por la interacción que se presenta entre la calidad de los materiales, la humedad, la temperatura y los gradientes de oxígeno.

Durante el proceso de maduración, el bocashi sufre cambios en sus características físicas, químicas y biológicas, de allí que se han estudiado métodos de análisis en éstas tres condiciones que permitan conocer el comportamiento del abono en sus diferentes estados de maduración. Dentro de los parámetros físicos se tiene el color, volumen, temperatura y textura, los cuales se pueden determinar mediante observaciones y mediciones periódicas de los mismos. Los parámetros químicos más importantes son la producción de sustancias húmicas, la relación carbono:nitrógeno, pH, concentración de elementos y la capacidad de intercambio catiónico. En el caso de los parámetros biológicos se tienen mediciones de fitotoxicidad, respiración, enzimas, biomasa microbiana y recuento de poblaciones de microorganismos.

La relación carbono:nitrógeno es un parámetro químico que presenta una mayor guía del proceso de maduración. Valores altos indican materiales inmaduros que causan inmovilización del nitrógeno, mientras que en un proceso normal, la relación decrece en pocos días hasta valores de 10:1 (Chen *et al.*, 1993, Inbar *et.al.*, 1990, Chanyasak *et.al.*, 1981).

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es otro parámetro que manifiesta el grado de maduración de un abono orgánico, ya que su valor aumenta conforme

avanza el tiempo de compostaje por la mayor liberación de elementos disponibles (Chen *et.al.*, 1993; Chanyasak *et.al.*, 1981; Inbar *et.al.*, 1990; Harada *et.al.*, 1980). Ellos también encontraron una correlación negativa entre esta variable y la relación C:N.

Otros parámetros químicos estudiados son el carbono soluble y la formación de sustancias húmicas (Inbar,1990; Chen *et.al.*, 1993; Weppen, 2002) donde con el tiempo se obtuvo una disminución del carbono orgánico soluble mientras que la concentración de los compuestos húmicos aumentó. También se observó una alta correlación exponencial entre este parámetro y el tiempo de compostaje y la relación C:N.

También se ha estudiado la aparición de diferentes compuestos orgánicos como el ácido acético y benzoico y otras fitotoxinas que se producen en abonos inmaduros y afectan la germinación y el desarrollo de raíces de los cultivos (Dinel *et.al.*, 1996, Zucconi *et.al.*, 1981b).

Desde el punto de vista biológico, se ha considerado al bioensayo como la evaluación última y más atractiva del grado de maduración de un abono orgánico, ya que éste indicará en pocos días el efecto adverso o positivo en el crecimiento de un cultivo tratado con el abono (Zucconi *et.al.*, 1981a; Hadar *et.al.*,1985, Inbar *et.al.*, 1990 ; Chen *et.al.*, 1993). Generalmente, la presencia de compuestos fitotóxicos, pocos nutrientes disponibles y la competencia por el oxígeno son las razones más importantes para que los cultivos no se desarrollen satisfactoriamente con abonos inmaduros.

La actividad biológica también se ha utilizado muy frecuentemente en las investigaciones sobre la madurez de los abonos orgánicos, en donde el parámetro de medición más usado es la respiración (Inbar *et.al.*, 1990, Paletzky *et.al.*, 1995; Belete *et.al.*, 2001; Weppen, 2002). Eggen *et.al.* (2001) encontraron una alta correlación

entre la actividad biológica, determinada por la tasa de respiración y el nitrógeno total y los ácidos húmicos presentes en los abonos.

Ramírez y colaboradores han desarrollado una metodología que utiliza la actividad microbiana como indicador de calidad del compost (Vandevivere y Ramírez, 1995, Salas y Ramírez, 1999).

Otros parámetros biológicos empleados son la biomasa microbiana y los recuentos totales y biodiversidad de microorganismos (Belete *et.al.*,2001), en donde se obtuvieron variaciones en la composición de la población microbiana debido a los cambios en el proceso relacionados con la temperatura, gradientes de oxígeno y la humedad de los abonos, así como la presencia de compuestos energéticos provenientes de las materias primas utilizadas en la formulación.

Cuadro 5. Características generales de un compost comercialmente aceptable.

Característica	Rango óptimo	Característica	Rango óptimo
% N	> 2	P%	0.15-1.5
C:N	< 20	Color	Café-negro
Cenizas (%)	10-20	Olor	Tierra
Humedad	10-20<40	CICE (meq/100g)	75-100

(Tomado de Paul y Clark, 1996)

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la calidad del abono orgánico Bocashi mediante la determinación de las poblaciones de microorganismos durante su proceso de fabricación y maduración.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1- Realizar recuentos de poblaciones de bacterias, actinomicetes y hongos en los diferentes pasos de la elaboración del bocashi.
- 2- Evaluar el efecto del enriquecimiento del bocashi con microorganismos eficientes sobre las poblaciones de bacterias, actinomicetes y hongos.
- 3- Determinar la biodiversidad microbiológica durante la maduración del bocashi a través de la identificación de los géneros de hongos presentes.
- 4- Conocer el efecto de las variaciones en temperatura y humedad durante el proceso de maduración del bocashi sobre la población de microorganismos.
- 5- Correlacionar los valores de materia orgánica, Nitrógeno, Carbono y la relación C:N con las poblaciones de microorganismos.

METODOLOGIA:

Ubicación de la investigación:

La confección de camas y la aplicación de los tratamientos se realizaron en la planta de producción del abono orgánico Bocashi de la compañía Bokashi S.A., ubicada en la localidad de El Coyol de Alajuela, mientras que los análisis de las muestras se realizaron en el Centro de Investigaciones Agronómicas y la Facultad de Microbiología.

Tratamientos evaluados:

1. Bocashi día 0
2. Bocashi 5 días de edad
3. Bocashi 10 días de edad
4. Bocashi 15 días de edad
5. Bocashi 30 días de edad
6. Bocashi 60 días de edad

Cada tratamiento constó de camas de 1m de ancho y 100 m de largo, con 4 repeticiones, conformadas por los sustratos que la empresa utiliza comercialmente para la fabricación del abono: caballaza, panzada, carbón, harina de sangre, bocashi maduro y broza de café. Los tratamientos también se repitieron para la aplicación de microorganismos eficientes mediante una adición del producto E.M. al 2% en una dosis de 1100 L/cama, en forma líquida sobre el sustrato.

RECUESTO DE POBLACIONES DE BACTERIAS, ACTINOMICETES Y HONGOS:

El recuento de bacterias y actinomicetes se realizó tomando 10 gramos de la muestra, la cual se diluyó en 90 ml de Agua Destilada Estéril (ADE), a partir de esta dilución se realizaron, en tubos con 9 ml de ADE, diluciones hasta 10^{-5}

Utilizando la técnica de esparcido se colocó 0,1 ml de las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} en placas de Petri con Medio de Albuminato (anexo 1), 2 placas por dilución. Las placas se incubaron a temperatura ambiente (TA) hasta el crecimiento de las colonias. Se contaron las placas que presentaron 25-250 UFC/ placa.

Para el recuento de hongos se utilizaron las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} , se colocaron 0,1 ml en placas de Petri con Medio Martin (anexo 1), 2 placas por dilución, también por esparcido. Se incubaron a TA por 5 días y se contaron las placas con 3-30 UFC/ placa.

IDENTIFICACION DE HONGOS:

Se utilizaron las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} , se colocó 0,1 ml en placas de Petri con Agar Papa Dextrosa (anexo 1), 2 placas por dilución, por esparcido. Se incubaron a TA hasta el crecimiento de las colonias.

Los hongos se identificaron macroscópicamente por la forma y la pigmentación en el anverso y reverso de la colonia y microscópicamente según las estructuras características que presenta cada Género, observadas con el medio de montaje azul de lactofenol o lactofenol (anexo 1). En algunos casos se utilizó la técnica de cultivo en lámina para poder observar mejor las características microscópicas.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y HUMEDAD DEL BOCASHI SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS:

En cada una de las edades del bocashi se tomaron mediciones de temperatura y humedad para correlacionar sus valores con las poblaciones obtenidas en los abonos. Para esto se colocó un termómetro a una profundidad de 30 cm de la cama desde la superficie. Para el caso de la humedad se tomaron muestras del sustrato de peso conocido, se colocaron en estufa a 80°C por 4 horas y luego se pesaron de nuevo.

CONTENIDO DE NITROGENO, CARBONO, RELACION C:N Y MATERIA ORGANICA DEL BOCASHI:

Se tomaron muestras de los diferentes tratamientos del bocashi y se llevaron al laboratorio para determinar las concentraciones de nitrógeno por el método de microKjeldahl en colorimetría en analizador de inyección de flujo a 660 nm, carbono y materia orgánica por el método de Walkley y Black (1938). Con los datos de N y C se realizaron los cálculos de la relación C:N de las muestras en las diferentes épocas de evaluación.

RESULTADOS Y DISCUSION:

IDENTIFICACION DE HONGOS:

La compañía Bokashi S.A utiliza para la elaboración de su abono los siguientes materiales: caballaza, panzada, carbón, harina de sangre, bocashi maduro y broza de café. Además utiliza EM (microorganismos efectivos, fabricado por la EARTH) al 2% en una dosis de 1100 L/cama, que aparte de las bacterias y actinomicetes contiene hongos de los Géneros *Aspergillus* y *Mucor*.

En el Cuadro 6, que contiene la información referente a la identificación de hongos, se observa que para el abono sin EM (B), utilizado como control, no se encontró ninguno de los géneros que contiene el EM. Sin embargo, en el abono con EM (B+EM), aparte de los géneros encontrados, que son propios de los materiales utilizados, solo se encontró *Aspergillus* s.p pero no *Mucor*. Esto pudo ocurrir porque alguno de los otros géneros de hongos tenga un efecto antagónico sobre el *Mucor* pero no para el *Aspergillus*.

También es importante la concentración que estos hongos tengan en comparación con la de los microorganismos que se encuentran como parte de la flora normal de los materiales que se utilizan y que le permitan poder establecerse como parte de esa flora para colaborar con la elaboración del abono.

Cuadro 6. Géneros de hongos encontrados en los diferentes días de elaboración de los abonos con y sin EM.

Días de elaboración	0	5	10	15	30	60
B	<i>Penicillium</i> <i>Gliocladium</i>	<i>Penicillium</i> <i>Hormodendrum</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i> Levaduras	<i>Penicillium</i> <i>Gliocladium</i>	<i>Gliocladium</i>
B + EM	<i>Aspergillus</i> <i>Gliocladium</i>	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Gliocladium</i>	<i>Aspergillus</i>

2- RECUENTO DE POBLACIONES DE BACTERIAS, ACTINOMICETES Y HONGOS:

En la figura 1 se puede observar que ambos abonos, con y sin EM, tuvieron un comportamiento similar en cuanto a las poblaciones de bacterias.

Durante los muestreos 1, 2 y 3 correspondientes a los 0, 5 y 10 días de elaboración del bokashi, las poblaciones no sufrieron grandes cambios. Para el cuarto muestreo (15 días), las poblaciones aumentaron considerablemente para después disminuir nuevamente a los 30 y 60 días (muestreos 5 y 6) que corresponden al tiempo de almacenamiento del abono.

Los actinomicetes mostraron el mismo comportamiento que las bacterias, también para ambos abonos (Figura 2).

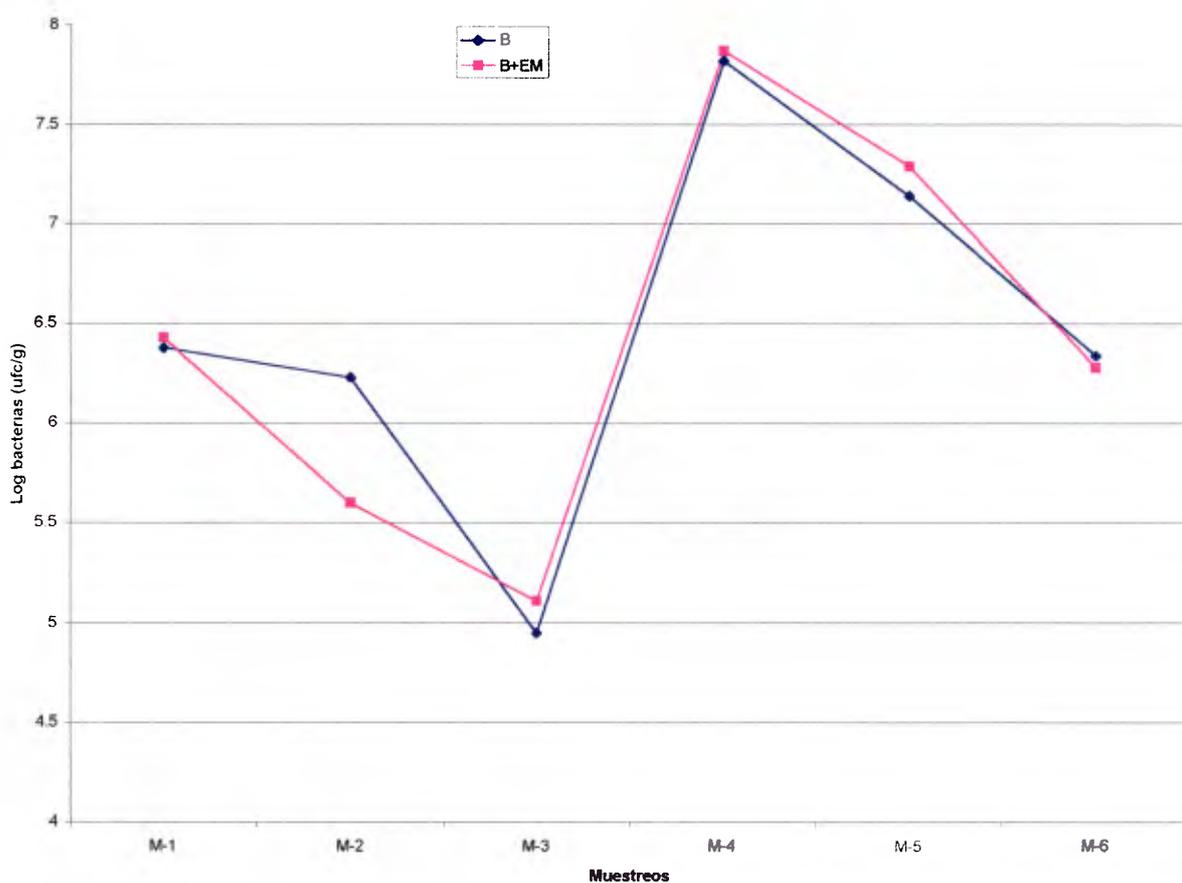


Figura 1. Logaritmo del número de bacterias/g del Bokashi con y sin EM en diferentes épocas de muestreo

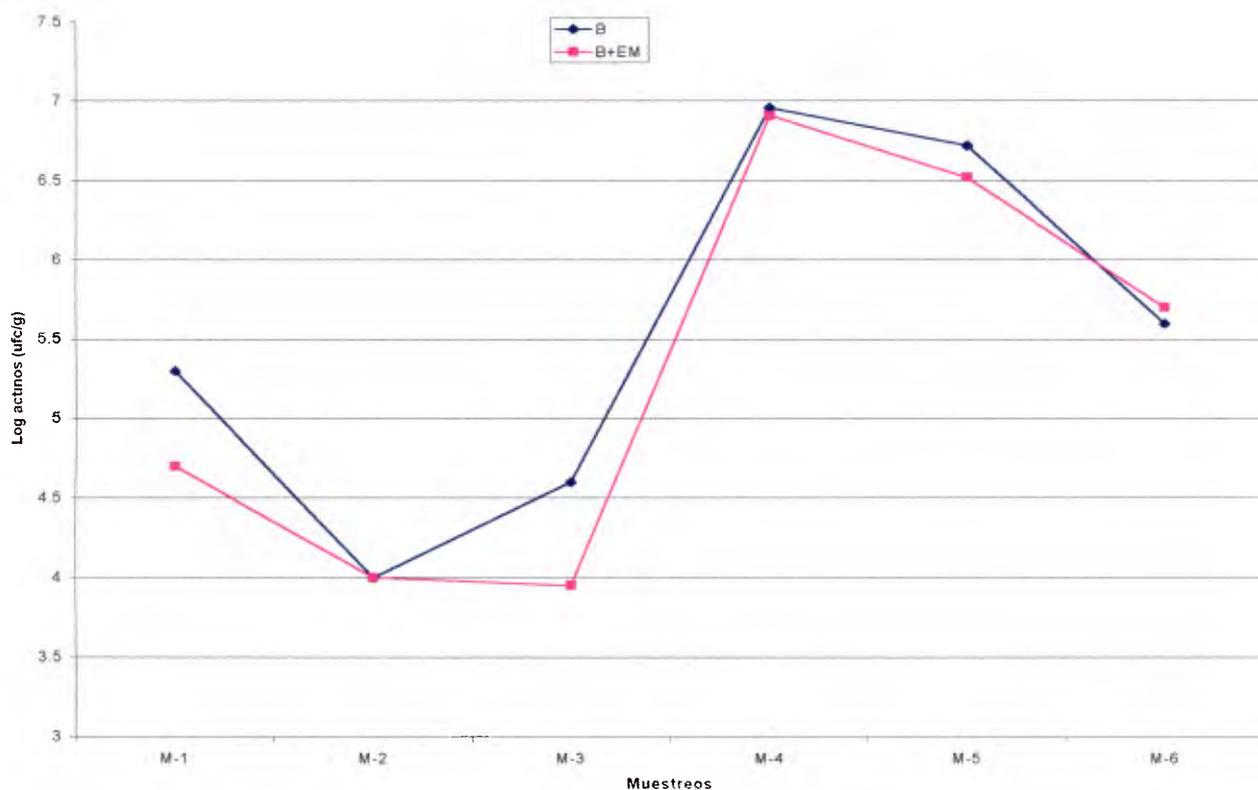


Figura 2. Logaritmo del número de actinomicetes/g de Bocashi con y sin EM en varias épocas de muestreo

Las poblaciones de hongos no sufrieron ningún cambio durante los primeros cuatro muestreos y se obtuvieron los mismos recuentos tanto para el bocashi con EM que para el que no lo tenía. Sin embargo, para el muestreo 5 (30 días), el abono con EM mostró un aumento más notable en la cantidad de hongos y siguió aumentando para el muestreo 6. Esta situación no se observó en el bocashi sin EM, en donde la población más bien disminuyó a los 60 días (Figura 3).

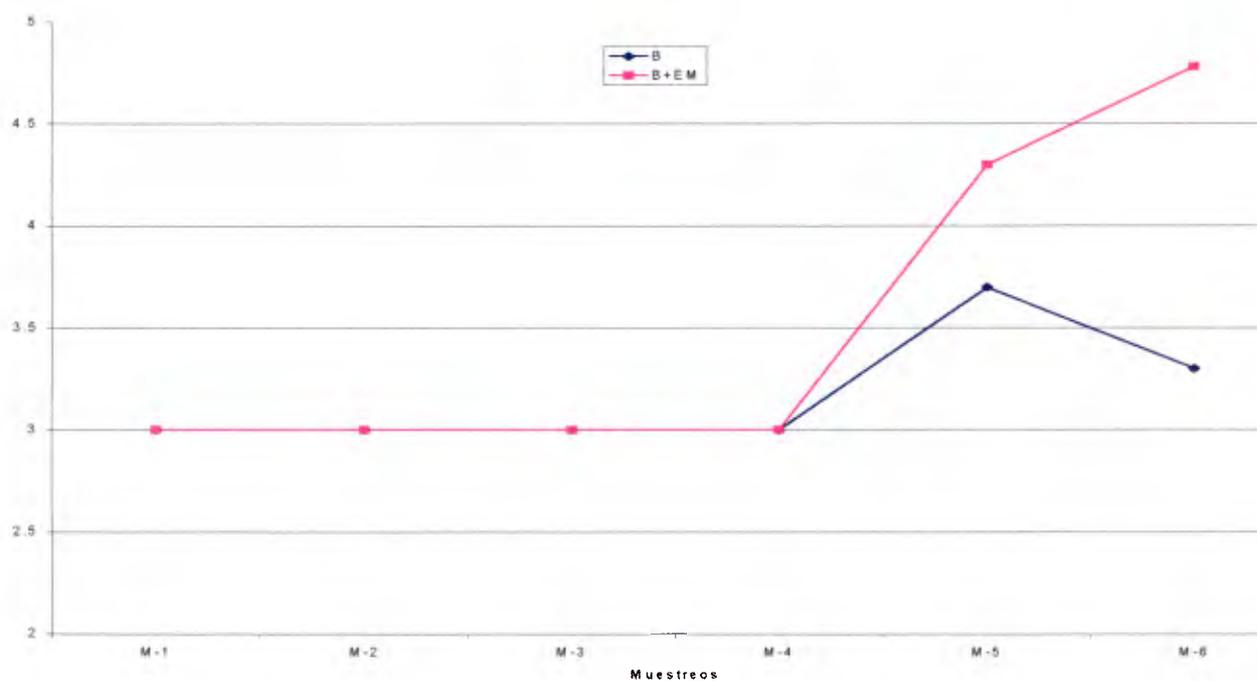


Figura 3. Logaritmo del número de hongos/g Bocashi con y sin EM en varias épocas de muestreo

Estos resultados demuestran que el mayor enriquecimiento microbiano que se logra con las aplicaciones de EM en el Bocashi está en las poblaciones de hongos, posiblemente por ser éste tipo de microorganismo el que se encuentra en mayor concentración en el EM. Otro aspecto importante es que la mayor concentración de microorganismos en general, se logró después de 15 días de iniciado el proceso de fabricación del producto, lo que puede beneficiar la mineralización de algunos sustratos orgánicos y así aumentar la disponibilidad de algunos elementos.

3- EFECTO DE LA HUMEDAD Y TEMPERATURA DEL BOCASHI SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS:

En la Figura 4, se observa que la humedad disminuyó del día 0 al 10, pero luego aumentó para el día 15, situación más notable en el caso del bocashi sin EM.

Para los días 30 y 60, correspondientes al tiempo de almacenamiento, la humedad vuelve a disminuir.

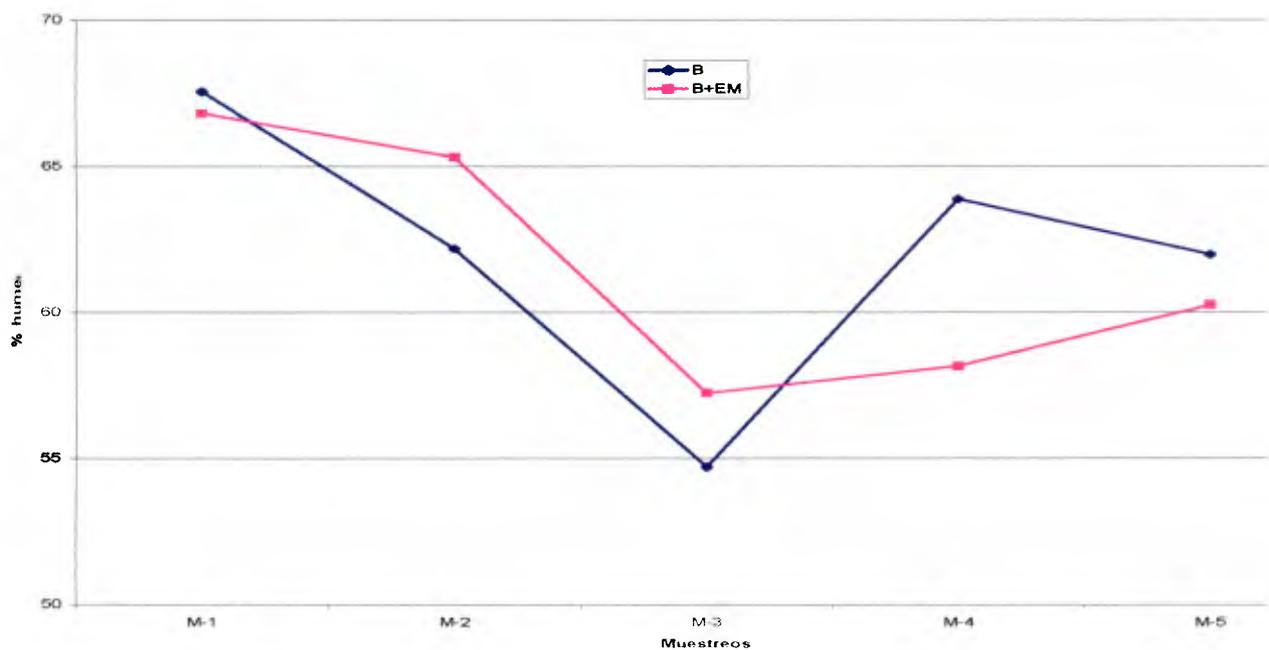


Figura 4. porcentaje de humedad de Bocashi con y sin EM en varias épocas de muestreo

Con respecto a los valores de temperatura, se observó que durante los primeros 15 días se mantuvo en 55°C y a partir de los días de almacenamiento (30 y 60 días) ésta descendió a 30°C

Al comparar los datos obtenidos en la Figura 4 con los obtenidos en los recuentos de poblaciones (Figuras 1, 2 y 3), se observa que la disminución en el

porcentaje de humedad ocurrida durante los primeros días de elaboración del abono y en los días de almacenamiento es reflejada en la disminución en los recuentos de microorganismos.

Del mismo modo se observa que en el día 15 en donde hubo un aumento en el porcentaje de humedad, también lo hubo en las poblaciones de bacterias y actinomicetes, pero no ocurrió lo mismo con los hongos debido, posiblemente a que estos toleran mejor los cambios en la humedad.

4- CONTENIDO DE NITROGENO, CARBONO, RELACION C:N Y MATERIA ORGANICA DEL BOCASHI:

El porcentaje de nitrógeno del abono con EM no presentó grandes diferencias durante los tres primeros muestreos, pero para el cuarto hubo un aumento que se mantuvo en los muestreos 5 y 6.

Para el abono control (sin EM), el porcentaje de nitrógeno se mantuvo estable hasta el muestreo 5 en donde comenzó a aumentar, obteniéndose una cantidad un poco mayor que en el primer abono (Figura 5).

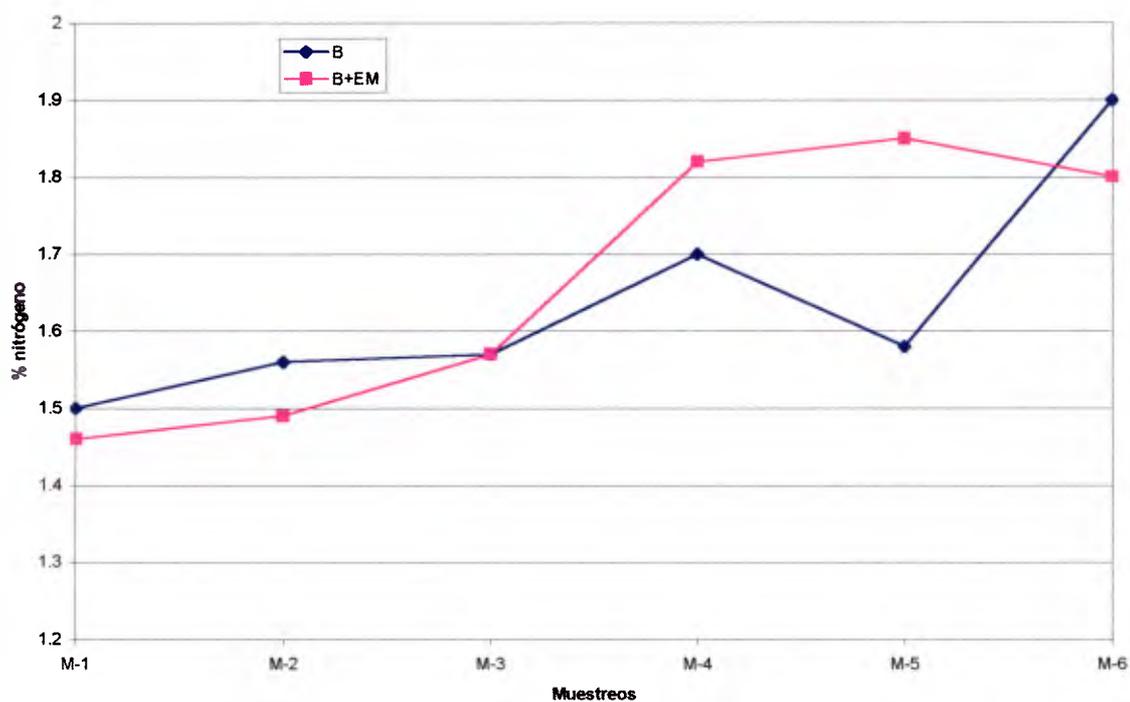


Figura 5. Porcentaje de nitrógeno de Bocashi con y sin aplicación de EM en diferentes épocas de muestreo

La cantidad de carbono no mostró grandes diferencias en las muestras de bocashi con y sin EM evaluadas durante el período de maduración (Figura 6), sin embargo, entre el muestreo 3 y 4 (días 10 y 15) se presentó en ambos casos una reducción importante de éste elemento, para luego aumentar del día 15 al 30 y nuevamente disminuir en el día 60. Este mismo efecto se observó en la variable relación C:N (Figura 7).

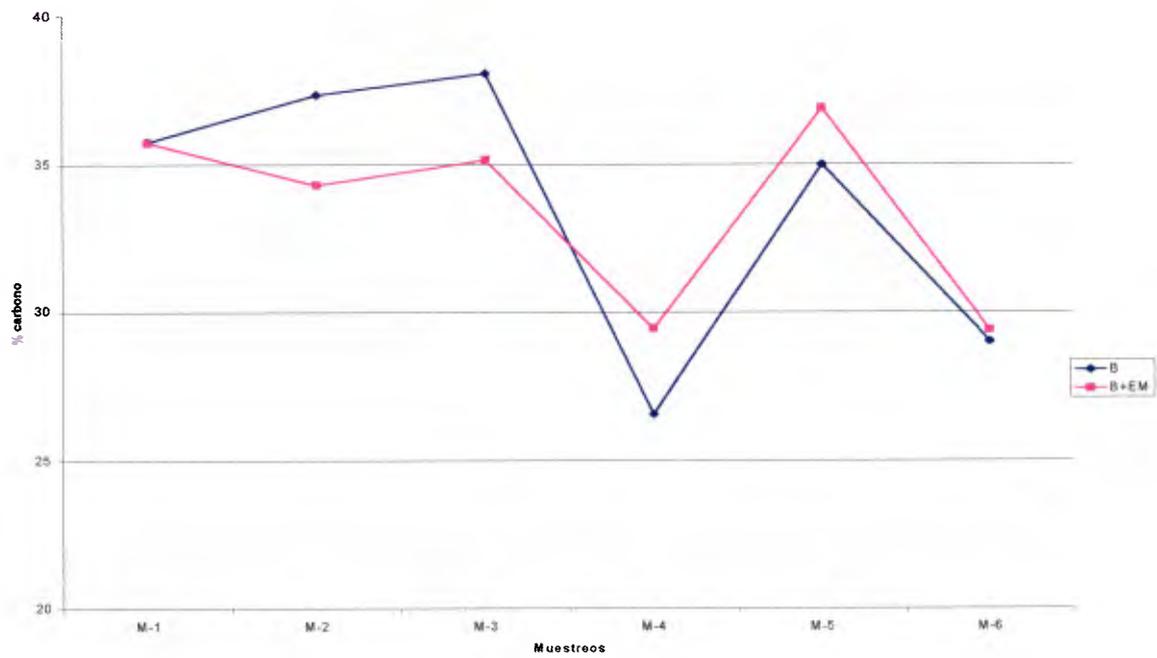


Figura 6. Porcentaje de carbono de Bocashi con y sin aplicación de EM en varias épocas de muestreo

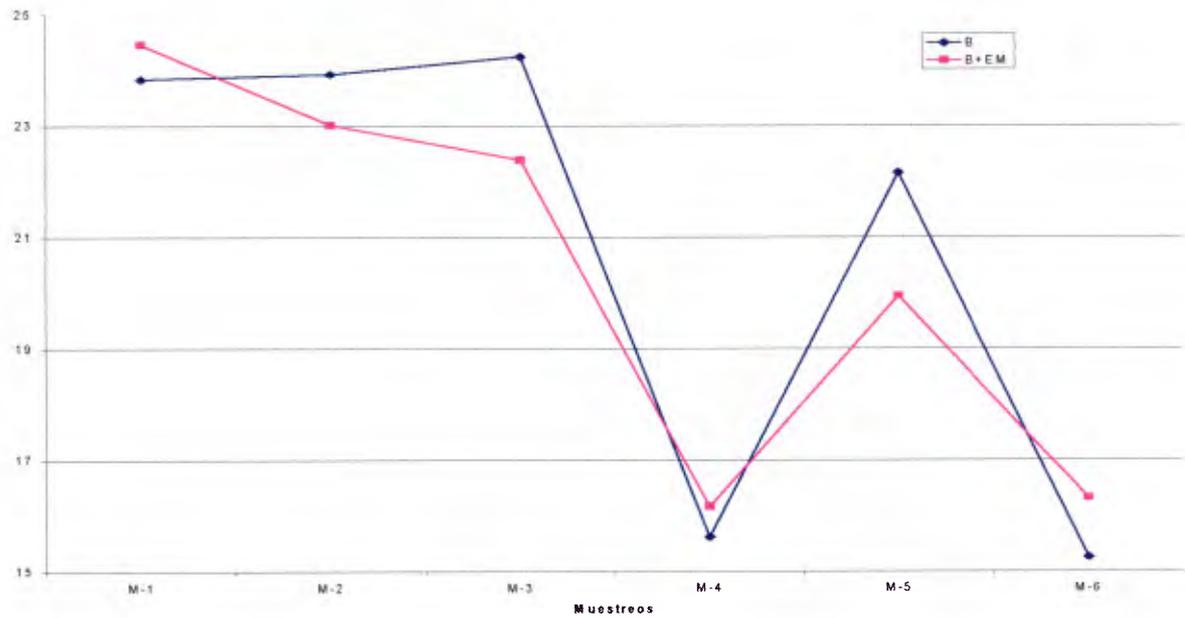


Figura 7. Relación C:N de Bocashi con y sin aplicación de EM en diferentes épocas de muestreo

La disminución en el porcentaje de carbono y de la relación C:N se ve relacionada con el aumento en las poblaciones de microorganismos en ese momento, debido a la utilización de estos compuestos como nutrientes para su multiplicación, lo que se refleja en una descomposición más rápida de los materiales utilizados en la elaboración del abono y por lo tanto en una mejor calidad del producto final.

La situación inversa ocurre con el nitrógeno, que tiende a aumentar cuando la cantidad de microorganismos se incrementa, ya que estos aceleran la liberación de este elemento el cual va a estar disponible más rápidamente y en mayores cantidades en el abono con EM.

CONCLUSIONES:

- 1- El producto EM tiene efecto en todas las poblaciones de microorganismos pero es más significativo en la población de hongos.
- 2- El hongo del género *Aspergillus*, que se encuentra en el EM, se adapta mejor a las condiciones de elaboración del bocashi y se establece como parte de la población.
- 3- En el inicio del proceso, las temperaturas altas van a impedir la multiplicación de los microorganismos, por lo tanto los recuentos son más bajos. Cuando la temperatura disminuye las poblaciones incrementan su número.
- 4- La humedad es importante para que los microorganismos se puedan multiplicar. Los recuentos son mayores cuando la humedad aumenta.
- 5- El comportamiento de las poblaciones de microorganismos fue muy similar en los dos tipos de abonos, con y sin EM, obteniéndose una mayor actividad el día 15 (muestreo 4).
- 6- El porcentaje de carbono es muy importante porque ayuda en la determinación del grado de descomposición de los materiales que se utilizan para elaborar el bocashi.
- 7- La aplicación de EM ayuda para que la liberación del nitrógeno se acelere y haya una mayor disposición a los 15 días de elaboración del abono.
- 8- Es importante controlar todos los parámetros que se midieron para obtener las mejores condiciones para que los microorganismos realicen su función más eficientemente y en un periodo más corto.

BIBLIOGRAFIA

- Alexander, M. Introduction to Soil Microbiology. Ed. John Wiley / Sons. Inc. New York, 1977.
- Bach, P; Nakasaki, K; Shoda, M ; Kubota, H. Thermal balance in composting operations. Journal Fermentation Technology, 1987.65(2): 199-209.
- Belete, L; Egger, W; Neunhauserer, C; Caballero, B; Insam, H. Can Community Level Physiological Profiles be used for compost maturity testing? Compost Science & Utilization, 2001.9 (1) 6-18.
- Bertsch, F. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. 1995.157 p.
- Bollo, E. Lombricultura. Una alternativa de reciclaje. Soboc, Grafic. Ecuador. 1999. 149 p.
- Chanyasak, V; Kubota, H.. Carbon/organic nitrogen ratio in water extracts as measure of composting degradation. Journal Fermentative Technology, 1981.59: 215-219.
- Chen, Y; Inbar, Y. Chemical and Spectroscopical analyses of organic matter transformations during composting in relation to compost maturity. In: Hoitink, H; Keener, H. (eds.) Science and Engineering of Composting. Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects. Renaissance Publications, Worthington, Ohio, 1993. pp. 551-600.
- Crawford, R. Lignin biodegradation and transformation. John Wiley, New York, 1981.154 p.
- Chapman, S; Veal, D; Lynch, J. Effect of oxygen concentration on dinitrogen fixation and volatile fatty acids production by Clostridium butyricum growing in association with fungus on cellulose and on wheat straw. Journal of Applied Bacteriology, 1992.72: 9-15
- Dinel, H; Schnitzer, M; Dumontet, S. Compost maturity. Extractable lipids as indicators of organic matter stability. Compost Science & Utilization, 1996.4 (1) 6-12.
- Eggen, T; Vethe, O. Stability indices for different composts. Compost Science & Utilization, 2001.9 (1) 19-26.
- Ferruzi, C. Manual de Lombricultura. Ediciones Mundi-Prensa. 1994.138 p.
- Guerrero, J. Abonos orgánicos. Tecnología para el manejo ecológico de suelos. Red de Acción en Alternativas al Uso de Agroquímicos. Lima, Perú, 1993.90p.

Hadar, Y; Inbar, Y; Chen, Y. Effect of compost maturity on tomato seedling growth. *Scientia Horticulturae*. 1985.27: 199-208.

Hansen, R.C., Keener, H. M., Marugg, C., Dick, W. A. Y Hoiting, H. A. J. Composting of poultry manure. In: HOITING, H.A.J. y KEENER, H. M. (ed). *Science and Engineering of composting: design, environmental, Microbiological and Utilization aspects*. 1993.131-153 p.

Harada, Y; Inoko, A. The measurement of cation exchange capacity of composts for the estimation of the degree of maturity. *Soil Science Plant Nutrition*. 1980.26: 127-134.

Haug, R. Composting process design criteria. Part III- Aeration. *BioCycle*, October, 1986 pp. 53-57.

Higa T; Parr, J; Microorganisms for a Sustainable Agriculture and Environment: International Nature Farming Research Center. Atami Japan, 1994.

Inbar, Y. Humic substances formed during the composting of organic matter. *Soil Science Soc. American Journal*, 1990.54 :1316-1323.

Inbar., Y; Chen, Y; Hadar, Y; Hoitink, J. New approaches to compost maturity. *Bio Cycle*, 1990. 64-69.

Keener, H; Marugg, R; Hansen, R; Hoitink, H. Optimizing the efficiency of the composting process. In: Hoitink, H; Keener, H. (eds.) *Science and Engineering of Composting. Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*. Renaissance Publications, Worthington, Ohio, 1993. pp. 59-94.

Lynch, J. Substrate availability in the production of compost. . In: Hoitink, H; Keener, H. (eds.) *Science and Engineering of Composting. Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*. Renaissance Publications, Worthington, Ohio, 1993. pp. 24-35.

McKinley, V; Vestal, J. Biokinetic analyses of adaptation and succession: microbial activity in composting municipal sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology* May, 1984.933-941.

Miller, F. Minimizing odor generation. In: Hoitink, H, Keener, H (eds.) *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization aspects* 1993.p. 219-241.

Paletsky, W; Young, J. Stability measurement of biosolids compost by aerobic respirometry. *Compost Science & Utilization*, 1995.3 (2) 16-24.

Paul, E. A., y Clark, F.E. Soil Microbiology and Biochemistry. 2nd ed. Academic Press. 1996.340 p.

Pelczar, M. J. Jr; Chan, E.C.S.; Krieg, N. R. Microbiology Concepts and Applications, Mc Graw- Hill, Inc; 1993, United States. 772 – 798 p.

Reis, M., Soliva, M., Martinez, F.X., y Monteiro, A.A. The influence of sewage sludge and urea as nitrogen sources in the composting process of eucalyptus bark. International Composting Symposium. Halifax, Canadá. 1999.67 p.

Restrepo, J. Abonos orgánicos fermentados. Experiencias de agricultores en Centro América y Brasil. OIT-CEDECO. 1996.49 p.

Rynk, R. On-farm composting handbook. Northeast Regional Agricultural Engineering Service. Cooperative Extension. New York, USA. 1992.186 p.

Salas, E., y Ramírez, C. Bioensayo microbiano para estimar los nutrientes disponibles en los abonos orgánicos: calibración de campo. Congreso Agronómico Nacional. In: Memoria: Recursos Naturales y Producción Animal. III Congreso Nacional de Suelos. Vol. III. 1999. 71 pp.

Schulze, K. Relationship between moisture content and activity of finished compost. Compost Science 1961.32-34.

Soto, G. Abonos orgánicos: producción y uso de compost. Memorias, Taller fertilidad de Suelos y Manejo de la Nutrición de Cultivos en Costa Rica. Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, agosto, 2001, p.47-66.

Toffey, W. E. We're in the soils business, remember!. Biocycle. 1998.39(12):57-61.

Vandevivere, P., y Ramirez, C. Control de calidad de abonos orgánicos por medio de bioensayos. In: GARCIA, J., y NAJERA, J. MEMORIA. Simposio Centroamericano de Agricultura Orgánica. UNED, Costa Rica, 1995. 121-140 p.

Walkley, A; Black, C. An examination of the Degtjareffs method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science, 1938. 37:29-38

Weppen, P. Determining compost maturity : evaluation of analytical properties. Compost Science & Utilization, 2002.10 (1) 6-15.

Zucconi, F ; Forte, M ; Monaco, A ; Bertoldi, M. Biological evaluation of compost maturity. BioCycle, 1981a. 22: 27-29

Zucconi, F; Pera, A; Forte, M; Bertoldi, M. Evaluating toxicity of immature compost. BioCycle, 1981b .22:54-57.

ANEXO 1**MEDIO DE ALBUMINATO:**

Glucosa	1.0 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2 g
Sulfato de hierro	trazas
Albúmina de huevo	0.25 g
Agar	12.5 g
Agua	1 L

Referencia: Manual de Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada. Editorial Universidad de Costa Rica. 1995. P 173.

MEDIO MARTIN:

Glucosa	10 g
Peptona	5.0 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
Rosa de Bengala	0.035 g
Estreptomicina	30 µg/mL
Agar	15 g
Agua	1 L

Referencia: Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press. London. 1995. p 159.

AGAR PAPA DEXTROSA:

Papas peladas	200 g
Glucosa	20 g
Agar	20 g
Agua	1 L

LACTOFENOL Y AZUL DE LACTOFENOL:

Cristales de fenol	20 g
Acido láctico	20 g
Glicerina	40 mL
Agua	20 mL

Referencia: Medios y reactivos utilizados en los laboratorios de Micología Médica.
Facultad de Microbiología, UCR, 2000, p. 2 y 20.