



UTEQ
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE
QUEVEDO

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS Y MOLECULARES DEL BOCASHI ENRIQUECIDO CON MICROORGANISMOS EFICIENTES AUTÓCTONOS (EMAS)

JORGE ADRIÁN CÁRDENAS CARRIÓN
ANA RUTH ÁLVAREZ SÁNCHEZ

CARACTERÍSTICA QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR DE BOCASHI ENRIQUECIDO CON MICROORGANISMOS EFICIENTES AUTÓCTONOS (EMAS)

JORGE ADRIÁN CÁRDENAS CARRIÓN
ANA RUTH ÁLVAREZ SÁNCHEZ



TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS:

© Ediciones GESICAP y Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador; Dirección de Investigación Ciencia y Tecnología (DICYT) 2022. Se autoriza la reproducción de esta publicación con fines educativos y otros que no sean comerciales sin permiso escrito previo detentar el derecho de autor, mencionando la cita.

© Jorge Adrián Cárdenas Carrión

© Ana Ruth Álvarez Sánchez

© Editorial: Ediciones GESICAP

El Carmen, Manabí, Ecuador

www.gesicap.com

© Universidad Técnica Estatal de Quevedo UTEQ

Quevedo, Ecuador.

www.uteq.edu.ec.

ISBN: 978-9942-626-02-8

Depósito Legal:

1ra Edición: Ediciones Gesticap, Calle 24 de julio y Ave 3 de julio, El Carmen Manabí Ecuador.

Copyright © Diciembre 2022.

COMO CITAR ESTE LIBRO:

Cárdenas-Carrión, J.A y Álvarez-Sánchez, A.R. 2022. Característica Química, microbiológica y molecular de bocashi enriquecido con microorganismos eficientes autóctonos (EMAs). Ediciones GESICAP, Ecuador, 61 pp.

EQUIPO EDITORIAL:

Edición y Diagramación: Sergio Alejandro Rodríguez Hernández

Revisión y Corrección: Justo Antonio Rojas Rojas.

Diseño de cubierta: Sergio Alejandro Rodríguez Hernández.

Imagen de Cubierta: Pixabay.com

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a mi directora de tesis, Biol. Ana Ruth Álvarez, al Ing. Luis Vera, quienes me guiaron y brindaron sus conocimientos para la realización de este trabajo de investigación

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, y de manera especial a los miembros del laboratorio de química y biotecnología, esta familia por brindarme todo el apoyo incondicional para conocer un poco más del campo de la biotecnología y e inculcarme la importancia del conocimiento en la producción de alimentos bajo sostenibilidad tecnológica.

DEDICATORIA

Primeramente, le dedico a Dios por haberme dado la vida y guiar cada en cada uno de mis pasos y decisiones tomadas permitiéndome superar los obstáculos que se presentaron durante todo el proceso de formación académica.

De manera muy especial dedico esta nueva meta obtenida a mi Madre, Gladys Carrión Labanda, por su apoyo incondicional al enseñarme a seguir luchando día a día ante las adversidades de la vida ante alegrías y tristezas, siendo un motor fundamental para seguir adelante y alcanzar cada una de mis metas propuestas.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Portada / i
AGRADECIMIENTOS / v
DEDICATORIA / vii
ÍNDICE DE CONTENIDO / viii
ÍNDICE DE FIGURAS / x
ÍNDICE DE TABLAS / x
I. / INTRODUCCIÓN / 3
II. / Marco teórico / 5
2.1. / Agricultura / 7
2.2. / Agricultura orgánica / 7
2.3. / Agroecología / 7
2.3.1. / Agroecología en Ecuador / 8
2.3.2. / Biotecnología en la agricultura / 10
2.3.3. / Abonos orgánicos / 10
2.3.4. / Agricultura con abonos orgánicos / 11
2.3.5. / Tipos de abonos orgánicos / 12
2.3.5.1. / Compost / 12
2.3.5.2. / Bocashi / 12
2.3.6. / Fermentación en bocashi / 14
2.3.7. / Contenido nutricional de un bocashi / 14
2.3.8. / Ventajas y desventajas del bocashi / 15
2.3.8.1. / Ventajas / 15
2.3.8.2. / Desventajas / 15
2.3.9. / Microorganismos Eficientes Autóctonos (EMAs) / 16
2.3.9.1. / Bacterias ácido lácticas / 17
2.3.9.2. / Bacterias fototróficas / 17
2.3.9.3. / Bacterias solubilizadoras de fosfatos / 17
2.3.9.4. / Bacterias solubilizadoras de nitrógeno / 18
2.3.9.5. / Bacterias solubilizadoras de potasio / 18
2.3.9.6. / Actinomicetos / 18
2.3.9.7. / Bacterias gram-negativas / 19
2.3.9.8. / Bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas / 19
2.3.9.9. / Bacterias fijadoras de nitrógeno no simbióticas / 19
2.4. / Marco legal / 20
2.4.1. / Marco legal de residuos sólidos / 20

2.4.2.	/ Marco legal para elaboración de abonos orgánicos	/ 21
III.	Materiales y métodos	/ 25
3.1.	Localización	/ 27
3.2.	/ Tipo de investigación	/ 27
3.2.1.	/ Experimental	/ 27
3.3.	Métodos de investigación	/ 28
3.3.1.	/ Inductivo	/ 28
3.3.2.	/ Deductivo	/ 28
3.4.	/ Fuentes de recopilación de información	/ 28
3.4.1.	/ Fuentes primarias	/ 24
3.4.2.	/ Fuentes secundarias	/ 28
3.5.	/ Procesamiento y análisis de la información	/ 28
3.5.1.	/ Obtención de microorganismos autóctonos para la elaboración del bocashi	/ 28
3.5.2.	/ Reproducción de microorganismos	/ 28
3.5.3.	/ Elaboración del bocashi	/ 29
3.5.4.	/ Caracterización físico-químico del bocashi	/ 29
3.5.4.1.	/ Densidad aparente (D.A)	/ 29
3.5.4.2.	/ Humedad gravimétrica (H.G)	/ 30
3.5.4.3.	/ pH	/ 30
3.5.4.4.	/ Textura	/ 30
3.5.4.5.	/ N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn, Zn, B	/ 30
3.5.4.6.	/ Porcentaje de materia orgánica	/ 30
3.5.5.	/ Análisis microbiológico del bocashi	/ 31
3.5.5.1.	/ Pruebas bioquímicas	/ 31
3.5.5.2.	/ Concentración celular individual de los aislados bacterianos procedentes de bocashi	/ 32
3.5.6.	/ Caracterización molecular de los microorganismos presentes en el bocashi	/ 33
3.5.6.1.	/ Extracción de ADN	/ 33
3.5.6.2.	/ Electroforesis	/ 33
3.5.6.3.	/ Análisis estadístico	/ 34
VI.	Resultados	/ 35
4.1.	/ Caracterización física del bocashi	/ 37
4.2.	/ Caracterización química del bocashi	/ 37
4.3.	/ Análisis microbiológico	/ 38
4.3.1.	/ Concentración celular de bacterias en bocashi	/ 38

4.3.2. / Análisis morfológico de las bacterias en estudio /	38
4.3.3. / Análisis bioquímico de los aislados bacterianos /	39
4.3.4. / Análisis de conglomerados de los microorganismos en estudio /	41
4.3.5. / Concentración celular de los aislados bacterianos /	41
4.3.6. / Extracción de DNA de las cepas bacterianas en estudio /	42
V. DISCUSIÓN /	43
VI. / CONCLUSIONES /	49
VII. / Recomendaciones /	50
VIII. / BIBLIOGRAFÍA /	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tierras agrícolas orgánicas y áreas no agrícolas /	11
Figura 2. Porcentaje de preparación de abonos. L compost=lombricompost, AcH=ácidos húmicos, Bio=Biofermentos. /	13
Figura 3. Contenido celular de los tratamientos en estudio /	38
Figura 4. Agrupamiento de los aislados bacterianos en estudio procedente de bocashi por el encadenamiento simple /	41
Figura 5. Contenido celular de los aislados bacterianos en estudio procedente de bocashi /	42
Figura 6. Visualización mediante electroforesis del ADN obtenido de los aislados bacterianos procedentes de bocashi. 1.5% de Agar molecular, ladder de peso molecular de 100pb /	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sistemas agrícolas ancestrales de Ecuador /	8
Tabla 2. Contenido de nutrimentos en diferentes tipos de bocashi /	14
Tabla 3. Apartados del Anexo I de la Normativa General para promover y regular la Producción Orgánica-Ecológica-Biológica en el Ecuador /	23

Tabla 4. Condiciones agroclimáticas de Santo Domingo de los Tsáchilas / 27

Tabla 5. Composición física de los tratamientos en estudio, con y sin inoculación de microorganismos / 37

Tabla 6. Composición química de los tratamientos, con y sin inoculación de microorganismos / 38

Tabla 7. Caracterización morfológica de las cepas en estudio / 39

Tabla 8. Caracterización bioquímica de las cepas en estudio / 40



CAPÍTULO I

MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

INTRODUCCIÓN

La expansión de las áreas urbanas con un acrecentamiento del 42% de la población mundial y con ello áreas de producción agropecuaria para satisfacer las necesidades alimenticias, ha incrementado el uso de agrotóxicos para la producción en el campo. Además, ha provocado afectaciones en el suelo, las plantas, la salud de los agricultores y a largo plazo a los consumidores (Aznar *et al.*, 2019)

Con referencia a lo antes expuesto, la agroecología y el uso de estas prácticas renacen como alternativa ante las problemáticas de la producción de alimentos sanos y las afecciones al equilibrio del planeta (Van der Ploeg, 2021). Entre los principales factores que prima en este tipo de agricultura es la construcción de la sustentabilidad bajo principios ecológicos y la disminución de la dependencia de insumos agrotóxicos que tanto afecta a la vida en el suelo y los recursos naturales (Holt *et al.*, 2021).

De acuerdo a los razonamientos que se han realizado en la producción de alimentos, no solo se requiere cantidad y calidad, sino que también sean sostenibles ambientalmente (Ilahi, 2021). Dentro de ellos el uso de abonos orgánicos se perfila como una opción viable para mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Cotrina *et al.*, 2020). El uso de partes vegetales y desechos de animales a partir de un tratamiento adecuado proporcionan vida a la rizosfera (Durán *et al.*, 2020)

Las consideraciones anteriores se puede afirmar que los abonos orgánicos permiten formar resistencia ante los factores bióticos y abióticos que tiendan afectar la producción de alimentos gracias a las interacciones microbianas y bacterianas que incorporan al suelo (Zhou y Yao, 2020). Para ello es importante crear un ambiente favorable para el desarrollo de comunidades microbianas (Armalytè *et al.*, 2019)

La aplicación de enmiendas orgánicas en el suelo como el bocashi, con adición de microorganismos eficientes (EM) se efectúa una rápida descomposición y lo convierte en parte de la solución a problemas en biodiversidad y nutrición edáfica que se evidenciara con la productividad de los cultivos (Ginting, 2019). La mezcla de microorganismos locales y sustancias limpias combinadas benefician al suelo y cultivos y propicia mayor resiliencia y productividad (Peralta *et al.*, 2019). Es importante destacar que la producción agrícola depende en gran parte de la salud del suelo y de las interacciones que el existen. De ahí que los microorganismos eficientes proporcionan mejor estructura, mayor fertilidad y mejora en la

actividad y diversidad biológica que en gran parte de los suelos agrícolas se ha perdido (Joshi *et al.*, 2019)

El cambio de agricultura convencional a una más sana, el uso de abonos orgánicos inoculados con carga microbiana son de gran importancia, pero es significativo conocer la carga de microorganismos que se coloca, con ello se tendrá mayor eficacia en la sinergia del suelo (Spanoghe *et al.*, 2020). En este mismo sentido, Prisa (2020) en un estudio sobre la aplicación de EM en bokashi evidenció un mayor desarrollo en las características fisiológicas en plantas de *Kolanchoe bossfeldiana*, gracias a una mayor absorción de nutrientes y agua.

De acuerdo a los razonamientos que se han realizado se plantea el siguiente problema científico: Debido al incremento de población en el mundo en los últimos años y la necesidad de satisfacer sus necesidades alimenticias el uso de agrotóxicos en el campo con un aumento significativo ha provocado que el recurso edáfico se vea afectado junto con la productividad de los cultivos y con ello la salud de los humanos y animales, aunque existe una apropiación a nivel mundial en el uso de abonos orgánicos el no saber que se inocula crea desconfianza y resistencia por los agricultores.

Dadas las condiciones anteriores se plantea la siguiente hipótesis; ¿la adición de microorganismos eficientes autóctonos (EMAs) podrán favorecer las condiciones físicas, químicas y biológicas del bocashi?. Para comprobar la hipótesis planteada se proyecta como objetivo general: evaluar la calidad en bocashi enriquecido con microorganismos eficientes autóctonos (EMAs) y como objetivos específicos; Caracterizar físico y químicamente al bocashi enriquecido con microorganismos autóctonos, aislar y cuantificar los microorganismos presentes en el bocashi enriquecido, extraer ADN de los microorganismos aislados del bocashi enriquecido.



CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. AGRICULTURA

La agricultura tiene un papel de gran importancia en el desarrollo y evolución de las sociedades y muchos países tienen dependencia de este recurso para su sostenibilidad. Es importante mejorar los procesos productivos, con la finalidad de mantener un equilibrio en el que se utilice al suelo y sus componentes sin afectarlo de manera agresiva, es preciso considerar que sin alimentación de calidad e inocuidad la vida de la humanidad se pondrá en riesgo (Gondchawar y Kawitkar, 2016).

La agricultura familiar genera cerca del 80% de los alimentos alrededor del mundo, este tipo producción alimenticia está relacionada con las funciones socio-culturales, económicas y ambientales, con la capacidad de generar alimentos sustentables, utiliza tecnologías empíricas y científicas sin afectar los recursos naturales y sin enfermar a quienes los consuman (Lima *et al.*, 2019). A pesar de la importancia que tiene la industria agrícola esta se ha visto afectada por el uso desmedido de agrotóxicos.

Los agrotóxicos son sustancias químicas nocivas utilizados en la agricultura para manejar poblaciones de insectos, malezas y hongos que afecten al cultivo y poner en riesgo la salud humana y afectar al medio ambiente (Fath y Jørgensen, 2020). Su uso, ganó relevancia a partir de los años 1960, con la revolución verde, destinados a la producción agrícola y en los últimos años se ha pronosticado que sus residuos a nivel mundial ponen en grande riesgo el equilibrio medioambiental (Araujo y Siqueira, 2021).

2.2. AGRICULTURA ORGÁNICA

La agricultura orgánica es una herramienta para la producción de alimentos que rescata el conocimiento ancestral y lo vincula con la ciencia e integra a la tecnología. Es por ello que se focaliza en ser una alternativa para el desarrollo rural y mejorar la economía de los agricultores, genera empleo, promueve la seguridad y soberanía alimentaria, mejora la fertilidad del suelo y disminuye los problemas de erosión. También coadyuva a crear procesos técnico-productivos familiares, con organización y distribución óptima en la cadena agroalimentaria (Ordoñez y Cárdenas, 2018).

2.3. AGROECOLOGÍA

La agroecología se fundamenta en desarrollo sostenible, el trabajo local de los agroecosistemas y la producción de alimentos sanos, en relación conjunta entre el conocimiento empírico-ancestral y la ciencia. Enfatiza

en diez elementos principales: la diversidad, las sinergias, la eficiencia, la resiliencia, el reciclaje, la creación conjunta e intercambio de conocimientos, los valores humano-sociales, la cultura, la gobernanza responsable y la economía circular solidaria (FAO, 2018).

En el orden de las ideas anteriores se puede mencionar que la agroecología ofrece alternativas de diseño, creación y administración de agroecosistemas con la capacidad de enfrentar y resistir crisis no solo en el ámbito de la producción. Entre las problemáticas a enfrentar no solo están: las afecciones de plagas, enfermedades, mejorar la salud de los recursos naturales y mejorar los procesos alimenticios, sino también es una alternativa a la crisis mundial que afectado nuestro planeta, como es el caso de la pandemia COVID 19 en la que se evidencia la vinculación de la salud humana, ecológica y animal, (Altieri y Nicholls, 2020).

2.3.1. AGROECOLOGÍA EN ECUADOR

En Ecuador, la agroecología es un tema y una práctica que se afianzado desde las organizaciones campesinas y sociales, que luchan por alejarse del uso de agrotóxicos que tanto afectado a comunidades y todo lo relacionado con ellas. Por eso el país se enfrascado en potenciar el conocimiento agrícola y pecuario de los pueblos indígenas y comunidades en la tabla 2 se puede observar cómo practicaban la producción de alimentos los grupos ancestrales (Intriago y Gortaire, 2016).

Tabla 1. Sistemas agrícolas ancestrales de Ecuador.

Sistema Agrícola	Característica determinante
Chakra andina	Se practica en los pueblos de la serranía, integra manejo y adaptación a diversos pisos climáticos, centro de origen de cultivos y crianzas, sistema de semillas muy desarrollado, calendario agrofestivo muy elaborado y vigente que se centra en la festividad del Inti Raymi.
Finca de los Pastos	Se practica en la provincia de Carchi, región de páramos norandinos, rasgos ancestrales en tecnología de labranza mínima llamada Wachu rozado, integra sistema silvopastoril papa – pastizal, gran conocimiento de ecosistema páramo.

Característica Química, microbiológica y molecular de bocashi enriquecido con microorganismos eficientes autóctonos (EMAs)

<p>Huerta de los Paltas</p>	<p>Practicado en la provincia de Loja, cantón Paltas. Adaptación al clima extremo de sequía, innovación tecnológica para siembra de agua cómo lagunas lénticas de infiltración y agricultura en lecho de río, sistema agroforestal diversificado.</p>
<p>Aja shuar</p>	<p>Sistema ampliamente reconocible entre pueblos shuar de la amazonía (provincias de Morona y Zamora principalmente). Agrobiodiversidad muy alta (más de 120 sp. por ha), sistema de agricultura itinerante mimetizado con selva amazónica, el aja se moviliza cada 2 o 3 años y retorna a un ciclo de regeneración natural, profundidad espiritual en la relación con la naturaleza</p>
<p>Chakra amazónica</p>	<p>Alta agrobiodiversidad. Agricultura de lecho de río, comprensión de funcionamiento de ciclos de fertilidad del suelo amazónico y dinámica del río.</p>
<p>Finca montubia (conuco)</p>	<p>Adaptabilidad a ecosistemas secos y húmedos, alta agrobiodiversidad, integración de subsistemas finca (principalmente frutales tropicales), era (huerto y despensa familiar) y albarrada (laguna de infiltración).</p>
<p>Cultivos en bancos o vegas</p>	<p>Éstos podrían ser los sistemas agrícolas más antiguos del Ecuador, situados a la orilla de los ríos de la costa ecuatoriana y cultivos de ciclo corto más cercanos al río y con estructuras más complejas de cultivos perennes al final.</p>
<p>Pueblo de manglar</p>	<p>Manejo integrado de 5 ecosistemas donde desarrollan pesca de estuario, recolección y agricultura diversificada: manglar-raconchal-finca-bosque húmedo tropical.</p>
<p>Canoeras, colinos y canteros</p>	<p>Manejo integrado de 3 subsistemas agrícolas canoera (huertos elevados), colino (finca de frutales diversos) y cantero (sistema de rotación de caña), además pesca en río, recolección y caza en bosque húmedo tropical, interculturalidad Chachi – Afro en norte de Esmeraldas.</p>

Fuente: Intriago y Gortaire (2016).

2.3.2. BIOTECNOLOGÍA EN LA AGRICULTURA

La biotecnología es parte de las ciencias biológicas, creada con la finalidad de desarrollar productos para mejorar la problemática de la demanda de alimentos en el mundo, utilizando los recursos genéticos de la flora y la fauna mediante la manipulación genética de estos organismos vivos, para mejorar, crear e innovar la agricultura, perfeccionando la resistencia, productividad y adaptabilidad de las especies (Umesha *et al.*, 2017). Valenzuela *et al.*, (2015) en su investigación sobre el gen ARNr 16S en el estudio de comunidades microbianas, señalan que gracias a los primer 16S, se puede identificar, clasificar, secuenciar con gran facilidad microorganismos presentes en un medio de cultivo, de forma precisa y eficiente, entendiendo adecuadamente las comunidades de microorganismos y reconociendo cuales son las bacterias que tienen mayor predominancia y actividad en los procesos sostenibles en suelos o abonos orgánicos..

2.3.3. ABONOS ORGÁNICOS

La agroecología prima el manejo adecuado del suelo y la salud de la producción de alimentos, para ello, que es de gran importancia el uso de enmiendas orgánicas, estas prácticas no solo aumentan la materia orgánica, sino también mantienen un equilibrio favoreciendo el desarrollo de organismos benéficos, favoreciendo la disponibilidad de agua y oxígeno necesarios para la vida edáfica (Rodríguez, 2019). Lo anterior permite postular que para alcanzar la sustentabilidad el uso de abonos orgánicos permite la reducción de la pérdida de nutrientes, lixiviación, erosión y compactación y estimula la producción de los cultivos, gracias a la actividad biótica que se genera (Altieri *et al.*, 2000). La Unión Europea acogido producir bajo el uso de esta tecnología potencializa aquellos materiales con mayor velocidad de acción (Charles, 2020).

En este mismo orden, en Ecuador desde hace algunos años también adoptado esta forma de producir alimentos, bajo compuestos orgánicos obtenidos de la descomposición de materiales orgánicos con descomposición acelerada pero correcta con el uso de organismos descomponedores capturados en ecosistemas naturales, teniendo como finalidad la disminución en el uso indiscriminado de agrotóxicos (Camino *et al.*, 2011).

2.3.4. AGRICULTURA CON ABONOS ORGÁNICOS

En la producción de alimentos el uso de abonos orgánicos encamina a una agricultura sostenible, para ello, el mundo se prepara cada día y así se puede encontrar que 187 países con 72.3 millones de hectáreas están encaminados a trabajar bajo la sostenibilidad de cultivos sanos. Se ha alcanzado un 1,5 % de tierras libres de agrotóxicos, en la figura 1 se puede evidenciar el uso de la tierra en el mundo. También es importante destacar que existe un promedio de 3.1 millones de agricultores en esta línea de producción, con 51% en Asia, seguido de un 27% en África, 14 en Europa y 7% en América Latina y que los países con mayor actividad orgánica son Australia, Argentina y España (Willer *et al.*, 2021).

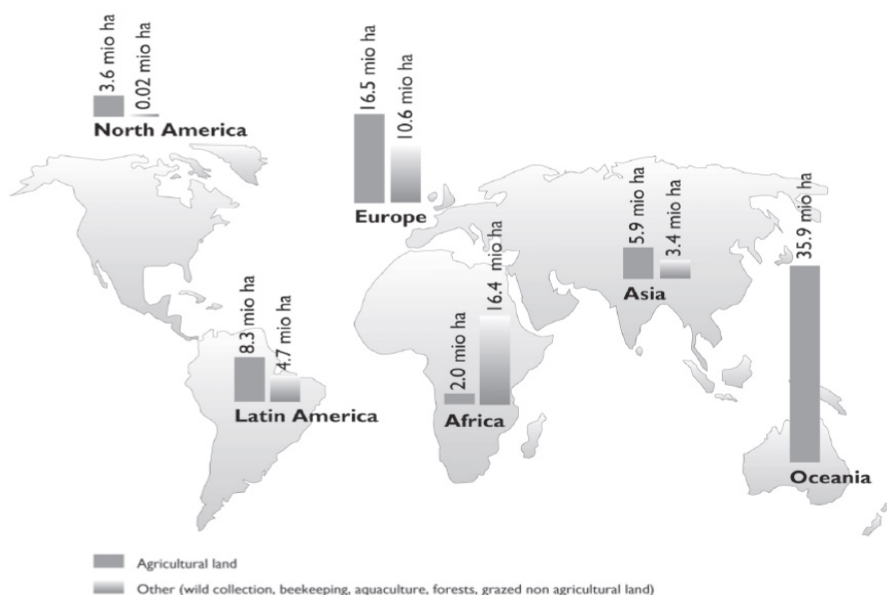


Figura 1. Tierras agrícolas orgánicas y áreas no agrícolas (Willer *et al.*, 2021).

Es inminente comentar que la necesidad de producir alimentos sanos y hacer un cambio de los paquetes tecnológicos que invadieron los campos a partir de la revolución verde a reincorporar el uso de técnicas y tecnologías que pasaron de ser conocimiento empírico y formar parte de la ciencia con la búsqueda de la sustentabilidad ha propiciado que no solo se cambien las condiciones nutritivas de nuestros suelos, sino también cambie la forma de alimentarnos y concientizarnos sobre el daño que le hemos ocasionado a nuestro planeta (Mosquera, 2010).

2.3.5. TIPOS DE ABONOS ORGÁNICOS

La sustentabilidad de la agricultura en la actualidad busca técnicas amigables con el planeta, se enfoca al uso de materiales orgánicos para la producción de alimentos sanos, con técnicas que se remonta desde inicios de la domesticación de los cultivos, pero que han sido efectivas en la productividad, reciclando y sin afectar los ecosistemas (Botelho, 2020). Existen diferentes tipos de abonos orgánicos sólidos fermentados, entre ellos compost y bocahi, de este último se detallará más sus características.

2.3.5.1. COMPOST

El compost es un abono orgánico fermentado, en el varía la composición química en dependencia de los materiales utilizados, la humedad, la tecnología que se emplee, el clima, el manejo, las fluctuaciones de temperatura que alcance. Adicional a lo comentado existe en este tipo de abono perdidas de nutrientes por lixiviación, por lo cual es de gran importancia tener mucho cuidado en la elaboración y aplicación del mismo (Sardarmehni *et al.*, 2021).

2.3.5.2. BOCASHI

El bocashi es originario de Japón y el significado a español es abono orgánico fermentado, el cual, tiene un proceso de semi-descomposición anaeróbica, que incorpora al suelo elementos minerales esenciales que permiten mejorar las condiciones físicas y químicas, suministra un pH favorable para la absorción radicular, aunque todo dependerá de los materiales que se utilicen en la elaboración (Marín, 2019). Es importante también destacar que, inocular microorganismos eficientes (EM) en este tipo de abono garantiza un mejor desarrollo de pedoflora bacteriana en el suelo, controla la salinización, mejorando la protección de las plantas al ataque de insectos e incrementa la disponibilidad de nutrientes para los cultivos (Prisa, 2020).

El bocashi, es una mezcla de balanceada de materiales orgánicos de origen vegetal, sometidos a procesos de fermentación anaerobia, esta técnica de producción es usada desde la antigüedad en Japón y expandida al mundo a finales de la década de los 80 por inmigrantes japoneses. La fermentación ocurre gracias a la acción láctica, acética, alcohólica y butírica, los nutrientes de este tipo de abono se presentan en forma de quelatos orgánicos y son de lenta lixiviación después de ser aplicados en el suelo. Es importante enfatizar que la acción de mayor importancia de este abono es la inoculación de microorganismos en el suelo equilibrando la biología del suelo (Siqueira y Siqueira, 2013).

Cabe agregar que el bocashi es un abono orgánico inodoro, que gracias a la intervención biológica se da un proceso de fermentación perfecta y acelerada. La inoculación de microorganismos en este tipo de abono no solo permite aumentar la diversidad y actividad microbiana en el material a descomponer. También ofrece mayor fertilidad a los agroecosistemas, con interacción promedio de 80 especies de organismos, unos con mayor y otros con menor eficiencia (Ginting, 2019). El abono sólido fermentado bocashi, a pesar de ser de fácil elaboración, y que no desarrolla olores desagradables, es poco conocido o elaborado en Latinoamérica, en la figura 2 se puede observar que menos del 10% de las personas que elaboran o aplican abonos orgánicos dan uso a este proceso (Huerta *et al.*, 2019) Huejotzingo, Puebla; conocer el nivel de apreciación y preferencia que tienen los productores por el uso de abonos orgánicos, los efectos que éstos tienen en sus cultivos, conocimiento e interés por elaborarlos, para iniciar un proceso de gestión local comunitario de residuos. Metodología: se realizó un estudio descriptivo mediante la aplicación de cuestionarios a 87 informantes clave de un total de 604 Unidades Familiares Campesinas (UFC).

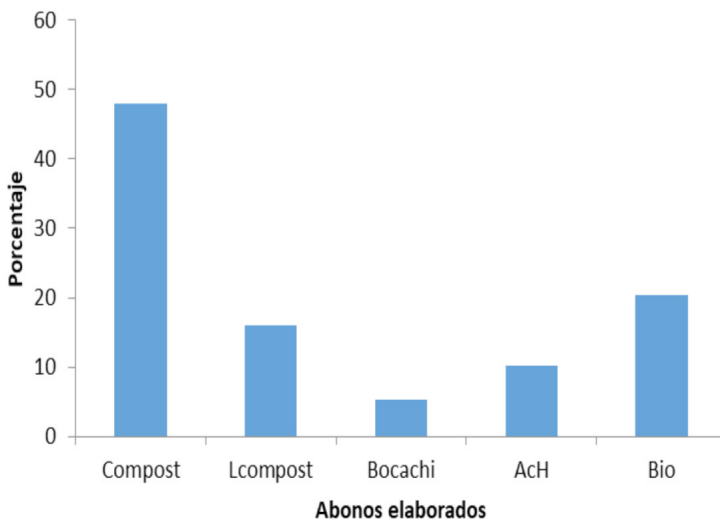


Figura 2. Porcentaje de preparación de abonos. Lcompost=lombricompost, AcH=ácidos húmicos, Bio=Biofermentos (Huerta *et al.*, 2019).

Una alternativa para disminuir el uso desmedido de los agrotóxicos y llegar a la autosuficiencia y optimizar los recursos locales al máximo es el uso de abonos orgánicos en la producción de alimentos (Boudet *et al.*, 2017). Los abonos de

origen orgánico como el bocashi ofrecen aumentar la producción de alimentos, la fertilidad del suelo, la minimización del daño ambiental, disminución de la contaminación de las fuentes de agua, mejorando los rendimientos productivos y la seguridad para la salud humana y animal. Además, puede contribuir en la biorremediación de los suelos contaminados (Chew *et al.*, 2019).

2.3.6. FERMENTACIÓN EN BOCASHI

En este tipo de abono la de fermentación se desarrolla a través de procesos anaeróbicos que gracias a la inoculación de microorganismos benéficos se potencializa la carga microbiana, permiten la aceleración en la transformación de los materiales orgánicos disponibles. Junto con la adición de melaza como fuente de energía los microorganismos activan y ayudan a desdoblarse los componentes, es importante tener presente mantener una humedad promedio del 30%, y manejar una adecuada relación C/N para que la fermentación sea adecuada y que no ocurra pudrición y lentitud o aceleramiento desmesurado en los procesos (Olle, 2021).

2.3.7. CONTENIDO NUTRICIONAL DE UN BOCASHI

Es importante destacar que no se debería hacer una comparación entre un abono orgánico y un sintético debido a que son dos cosas diferentes y más aún cuando se prima la importancia de la materia orgánica, la composición química dependerá de los materiales bases para su elaboración, en la tabla 3 se puede observar el contenido nutricional de diferentes bocashi y se observa que a pesar de tener diferentes porcentajes en cada uno de ellos, no dejan de ser una opción viable e importante para la producción de alimentos sanos y sustentables (Ramos y Terry, 2014).

Tabla 2. Contenido de nutrimentos en diferentes tipos de bocashi.

Referencia	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Mn (mg Kg ⁻¹)	Zn	B
2	1,60	0,40	2,20	1,00	0,70	15175	32	500	108	ND
32	1,18	0,70	0,50	2,05	0,21	2304	19	506	61	18
41	2,18	0,83	0,60	2,41	0,56	3,57*	71	963	117	ND
42	2,00	0,19	5,30	0,54	0,15	643	5,70	747	16,8	ND

* valor expresado en porcentajes, ND: no determinado

Fuente: (Ramos y Terry, 2014).

2.3.8. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL BOCASHI

2.3.8.1. VENTAJAS

En este tipo de abono puede apreciarse alta presencia microbiana lo que permite desarrollar mayor actividad biológica en el suelo, esto permite tener una fácil y rápida asimilación de nutrientes, mejora la estructura del suelo, y facilita el desarrollo de agregados, también es importante destacar que proporciona mayor contenido energético por minimización de volatilización debido a que no desarrolla altas temperaturas en el proceso de fermentación en comparación a otros abonos (Garro y Sierra, 2017).

2.3.8.2. DESVENTAJAS

Si no se maneja adecuadamente el proceso de producción, puede conllevar grandes desventajas, por ello, la importancia de conocer bien que se inocula para no infestar con microorganismos patógenos que desarrollarán malos olores por putrefacción en vez de fermentación, también con ello inanición de nitrógeno y gases y ácidos dañinos para la micro y macro fauna y flora del suelo (Shintani *et al.*, 2000).

Sarmiento *et al.*, (2019) comentan que gracias a la inoculación de microorganismos eficientes en el bocashi, pudieron obtener respuestas significativas en el número, peso y rendimiento de frutos del cultivo de fresa, gracias a la mineralización que desarrolla la biología presente en el abono, beneficiando de forma indirecta a la economía del agricultor. Barrera *et al.*, (2017) manifiestan que, el uso de bocashi con adición de microorganismos eficientes pueden ser una alternativa para mejorar la productividad en el cultivo de maíz, ya que mejora significativamente los rendimientos, la economía del productor y adicional a ello mejora los suelos cultivables.

Mota *et al.*, (2019) indican que, la incorporación de bocashi en la producción de moringa, mejora significativamente la etapa productiva, aumentando en gran manera la formación de frutos, además de mejorar la capacidad de crecimiento y adicional a lo mencionado, este tipo de abono mejora el pH del suelo. Boechat *et al.* (2013) donde reportan que la inoculación de EM, acelera la descomposición de los materiales orgánicos, con ello mejora la actividad microbiana en el suelo y aumenta mineralización de nitrógeno desde los siete primeros días hasta los 91 días.

Peralta *et al.* (2019) reportó que con la adición de microorganismos benéficos para el suelo proporciona mayor cantidad de materia orgánica para los cultivos, en el caso del brócoli a los 45 días después del trasplante el área

dosel se mantiene entre 50 a 79 dm². Díaz *et al.* (2017) investigaron el efecto de la estabilidad y madures del abono en menor tiempo, con estándares de calidad bajo revisiones de Agrocalidad utilizando bacterias *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* y las cepas de hongos *Aspergillus fumigatus*

Cruz *et al.*, (2018). encontraron la interacción de seis promisorios para degradación de almidón, 23 para proteínas y 31 para xilano y demostraron que esta práctica permite mayor eficiencia en la degradación y se determinaron microorganismos promisorios para degradación de almidón y evidenciaron que los hongos y actinomicetos tienen mejores actividades enzimáticas extracelulares comparados con las bacterias, aunque sus porcentajes de degradación a nivel cualitativo son menores.

Loarte *et al.* (2018) estudio la adición de microorganismos eficientes (EM) y encontró una fermentación de 60 días lo cual, aumenta un promedio de 30,6% de materia orgánica, entre 11 y 12% de Ca, 1116 pmm. de K₂O y P₂O₅ 757 pmm., disponible para las plantas. Eyre *et al.* (2019) mencionan que para tener un abono limpio es importante hacer la identificación y caracterización de los organismos inoculados, identificando las secuenciaciones de los organismos presentes, lo que permitirá potencializar adecuadamente y responsablemente la carga microbiana en el suelo o sustratos.

2.3.9. MICROORGANISMOS EFICIENTES AUTÓCTONOS (EMAS)

La actividad de los microorganismos eficientes fue descubierta por el científico japonés Teruo Higa a inicios de la década de los 80, quien en sus trabajos de horticultura ha evidenciado la eficacia de estos organismos como una alternativa sostenible en el manejo de abonos, el suelo y alimentos sanos (Tanya y Leiva, 2019). En referencia a lo antes mencionado, la tecnología del uso de microorganismos eficientes busca brindar una alternativa sana y equilibrada a los productores de alimentos con grupos de organismos benéficos y potenciales entre ellos; bacterias ácido lácticas, grupos de actinomicetos, levaduras y hongos, que mejoraran las condiciones físicas, químicas y biológicas incrementando a protección y producción de los cultivos (Luna y Mesa, 2016). El uso de microorganismos autóctonos ofrecen grandes alternativas y son saludables, tanto así que se los utiliza en la producción de alimentos y bebidas fermentadas por la gran actividad benéfica que tienen sin provocar contaminación representando una alternativa natural y sostenible ante la alta tasa de desperdicios que se pueda

tener en un sistema de productivo (Torres *et al.*, 2020).

El estudio de los microorganismos del suelo y su relación con el desarrollo y producción de los cultivos es de gran importancia, ya que existen evidencias que los microorganismos eficientes o benéficos favorecen la absorción de nutrientes, previenen enfermedades, mejoran la estructura y carga microbiana del suelo y la retención de humedad, por ello es de fundamental identificar y caracterizar a los organismos presentes en los abonos para identificar cuáles son los que tienen mayor y mejores interacciones favorables en las interacciones suelo-planta (Meléndez *et al.*, 2021).

Dadas las condiciones que anteceden Boechat *et al.*, (2013) comentan que el orgánico fermentado bocashi con inoculación de microorganismos eficientes permite acelerar el proceso de descomposición de los materiales orgánicos y adicional a ello desarrolla efectos positivos en la mineralización neta de nitrógeno (N), que al aplicarlo al suelo ya sea para la producción en cultivos o recuperación edáfica, ofrecerá mayor fertilidad y actividad microbiana. Entre las principales bacterias presentes en los EMAs se tiene:

2.3.9.1. BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

Bacterias aerotolerantes, tolerantes a ácidos, organotróficas y su función principal es la producción de ácido láctico catabólico a partir de glucosa, las catalasas y los citocromos son producidos en presencia de este ácido, además este ácido es producido por algunas bacterias grampositivas y algunos actinomicetes (Helmut y Fröhlich, 2017).

2.3.9.2. BACTERIAS FOTOTRÓFICAS

Este grupo de bacterias tienen la característica de desarrollarse mediante la utilización de la energía lumínica con la particularidad de no generar oxígeno. Entre los grupos dominantes encontramos a las bacterias de azufre de color púrpura, azufre verde y las bacterias fototróficas anoxigenicas filamentosas verdes y rojas, es importante destacar que todas presentan bacterioclorofilas y carotenoides y generadores de ATP, reductores celulares fijadores de CO₂ y tienen la capacidad de biorremediación de agrotóxicos y metales pesados (Frigaard, 2016).

2.3.9.3. BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATOS

Según Naeem *et al.*, (2017) el fósforo es un nutriente esencial para la producción en los cultivos, su uso inadecuado hace que se reduzca su

fijación, pero existen las bacterias solubilizadoras de fósforo, permiten tener una mayor disponibilidad proporcionándolo a los abonos o al suelo directamente a través de actividades enzimáticas o a través de secreciones ácido orgánicas, solubilizando o movilizándolo al fósforo desde las fuentes orgánicas u orgánicas mejorando la productividad química desarrollando procesos biológicos de sostenibilidad .

2.3.9.4. BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE NITRÓGENO

Según Meena *et al.*, (2017) en los últimos años se ha degradado los suelos de manera indiscriminada afectando de manera significativa la salud y agotando la disponibilidad de nutrientes para la producción de cultivos con significancia alimenticia, por ello, la importancia de estudiar e incorporar o devolver al componente edáfico organismos benéficos que permitan crear un ambiente equilibrado, en el caso de las bacterias solubilizadoras de nitrógeno las cómo; *Rizobio*, *Achromobacter*, *Arthobacter*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Azomonas*, *Beijerinckia*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Lignobacter*, *Mycobacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Derxia*, *Desulfovibrio*, *Corynebacterium*, *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomcterium* y *Methylosinus*. crean vínculos sostenibles al incorporar nitrógeno atmosférico o permitir la solubilización de este nutriente para la absorción por parte de las plantas.

2.3.9.5 BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE POTASIO

El potasio (K) es esencial en el desarrollo y productividad de los cultivos, pero se encuentra poco disponible en el suelo para las plantas a pesar que es muy necesario por ser un macronutriente y la funcionalidad que cumple en ellas. Por ello al realizar procesos de inoculación de microorganismos en los abonos se puede utilizar organismos como las bacterias solubilizadoras de potasio que tengan la capacidad de solubilizar este nutriente a disponible mediante la generación de ácidos y liberación K de minerales insolubles, además de brindar a las plantas protección ante condiciones de estrés y ante patógenos (Meena *et al.*, 2016).

2.3.9.6. ACTINOMICETOS

Son aeróbicos, bacterias grampositivas, son los responsables del olor característico a suelo sano y desempeñan un papel importante en el ciclo de la materia orgánica, inhiben el crecimiento de patógenos en la rizósfera

y ayuda a descomponer polímeros. Aunque la principal función es el amortiguamiento biológico, la degradación de compuestos de alto peso molecular, fijación de nitrógeno y mejora la disponibilidad de nutrientes mejorando los reguladores de crecimiento (Bhatti et al., 2017)\

2.3.9.7. BACTERIAS GRAMNEGATIVAS

La identificación y caracterización de bacterias en un abono orgánico son de gran importancia con ello se puede conocer las colonias que predominan y las interacciones que podrían proporcionar a los abonos, el suelo y los cultivos. Entre los beneficios más importantes se encuentran; la fijación de nitrógeno atmosférico N_2 y son promotoras de crecimiento de las plantas. También permiten la solubilización de nutrientes no asimilables en asimilables, protectoras de enfermedades proporcionando resiliencia y sostenibilidad al suelo y a los cultivos (Backert y Grohmann, 2017;Escobar et al., 2020).

2.3.9.8. BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO SIMBIÓTICAS

Según Thomas y Rahman, (2020) existe un amplio desarrollo de géneros de bacterias formadoras de nódulos entre ellas; *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Methylobacterium*, *Microvirga*, *Rhizobium*, etc, además, de formar proteínas de nodulación con especies vegetales leguminosas, lo que permitirá obtener de manera efectiva nitrógeno atmosférico y disponibilidad en el suelo para su utilización sostenible sin afectar la vida del suelo, mejorando las poblaciones de organismos benéficos del componente edafico.

2.3.9.9. BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO NO SIMBIÓTICAS

A pesar que el nitrógeno atmosférico N_2 es uno de los compuestos con mayor abundancia en el planeta, la absorción del mismo de forma directa por las plantas o el suelo es ineficiente por no decirlo nulo. Por ello, el desarrollo de bacterias como el caso de las fijadoras de nitrógeno no simbiótico son de gran importancia para transformar N_2 en amoniaco NH_3 , permiten una absorción eficiente de este por las plantas para cumplir sus funciones vitales, además de aportar en el uso óptimo sin pérdidas por lixiviación o a través de gases hacia la atmosfera, entre las principales bacterias con esta particularidad encontramos; *Azotobacter*, *Cyanobacterias* y *Beijerinckiason* (Flora et al., 2021).

2.4. MARCO LEGAL

2.4.1. MARCO LEGAL DE RESIDUOS SÓLIDOS

La Declaración de río sobre el medio ambiente y el desarrollo, organizada por la Organización de Naciones Unidas (ONU, 1992) en Río de Janeiro, prescribió cuatro áreas de programas congruentes con los residuos:

- a. Reducción a nivel mínimo los residuos.
- b. Máximo aumento de la reutilización y reciclado ecológico de residuos.
- c. Impulso de la eliminación y tratamiento ecológico-racional de los residuos.
- d. Ampliación del alcance de los servicios que se ocupan de los desechos; promover el desarrollo sostenible y ecológicamente racional en los países (ONU, 1992).

En el capítulo 21 de la Agenda 21, referente al manejo de los residuos sólidos y líquidos, se crea la necesidad de modificar modelos de consumo, reduciendo la obtención de productos no sustentables. Conjuntamente, se indica la necesidad de promover el reciclaje, invertir en investigaciones y búsqueda de nuevas opciones (Ponte, 2008).

El Ministerio del Ambiente (MAE) es la entidad ecuatoriana rectora, coordinadora y reguladora del sistema nacional descentralizado de gestión ambiental; sin afectar las atribuciones que en el ámbito de sus competencias y acorde a las leyes que las regulan, ejercen otras instituciones del Estado (Moreno, 2019).

La Constitución Política de la República del Ecuador Publicada en el Registro Oficial, el 20 de octubre del 2008 es la norma fundamental que contiene los principios, derechos y libertades de quienes conforman la sociedad ecuatoriana y constituye la cúspide de la estructura jurídica del Estado, en la cual establecen las siguientes garantías y principios ambientales (Asamblea Constituyente del Ecuador, 2008):

- Artículo 14 de la sección segunda: “Reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, que en idioma kichwa se denomina *sumak kawsay*. De igual manera, declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados” (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

- Artículo 23-capítulo 2: “establece el derecho a vivir en un ambiente sano, ecológicamente equilibrado y libre de contaminación” (Constitución de la República del Ecuador, 2008).
- Artículo 276 numeral 4: “señala que el régimen de desarrollo tendrá entre otros objetivos, el recuperar y preservar la naturaleza y mantener un ambiente sano y sustentable, que garantice a las personas y colectividades el acceso equitativo, permanente y de calidad de agua, aire y suelo, y a los beneficios, de los recursos del subsuelo, y del patrimonio natural” (Constitución de la República del Ecuador, 2008).
- Artículo 397 numerales 2 y 3: “señala de interés público la preservación del ambiente, para lo cual el Estado se compromete a establecer mecanismos efectivos de prevención y control de la contaminación ambiental, de recuperación de espacios naturales degradados y de manejo sustentable de los recursos naturales” (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

La Ley de Gestión Ambiental establece normas básicas para la aplicación de políticas ambientales, además considera y regula la participación de sectores públicos y privados en temas relacionados al medio ambiente con se menciona en el Artículo 2 que indica que “La Gestión ambiental se sujeta a los principios de solidaridad, corresponsabilidad, cooperación, coordinación, reciclaje y reutilización de desechos, utilización de tecnologías alternativas ambientalmente sustentables y respecto a las culturas y prácticas tradicionales” (Ley de Gestión Ambiental, 2004)

2.4.2. MARCO LEGAL PARA ELABORACIÓN DE ABONOS ORGÁNICOS

En relación con el marco legal para la elaboración de abonos orgánicos tipo bocashi no existen aún normativas específicas vigentes nacionales aplicables a esta actividad por lo cual se ha llegado a utilizar normas internacionales referentes a la presencia de metales pesados, patógenos y vectores. Por ejemplo, la Normas EPA (Fed.Reg.40, CFR. Parte 503,1981), CFIA (T-4-120 y T-4-93), NTC 5167, NCH 2880 y las de la Unión Europea (Council Directive 86/27/278/ EEC) (Moreno, 2019).

Varias entidades nacionales públicas y privadas con actividades relacionadas a la producción orgánica en el Ecuador, se rigen al instructivo vigente de la Normativa General para promover y regular la Producción

Orgánica–Ecológica–Biológica en el Ecuador, publicada en el registro oficial No. 34 del 11 de julio del 2013, en su Artículo 18. De la fertilidad del suelo y nutrición de las plantas señala que:

h) Para la activación del compost podrán utilizarse preparados adecuados a base de plantas o preparados de microorganismos. No se permite el uso de materiales no incluidos en compost o enmiendas (AGROCALIDAD, 2013).

i) Se recomienda para el compostaje del estiércol el seguir cualquiera de los siguientes procedimientos para reducir el riesgo de contaminación microbiológica en el producto final:

1. Se aplique estiércol sin procesos de compostaje para productos no destinados al consumo humano.
2. Se aplique estiércol sin procesos de compostaje 90 días antes de la cosecha en el caso de productos que no tengan contacto con el suelo y 120 días antes de la cosecha para productos cuya parte comestible tenga contacto con el suelo.
3. El estiércol se someta a un proceso de compostaje en donde se garantice y registre que la relación C/N de las materias primas se encuentre dentro del rango de 25:1 a 40:1, que a lo largo del proceso de compostaje se den 5 volteos y al menos durante 5 semanas se mantenga dentro de un rango de temperatura de 55°C a 76°C.
4. El estiércol fresco sea tratado de forma de que todo el producto, sin causar combustión, alcance una temperatura de 66°C por al menos 1 hora o de 74°C, y que sea deshidratado a un máximo de humedad del 12% o sometido a un proceso de deshidratación equivalente.
5. El compost sea sometido a cualquier proceso equivalente cuyos resultados microbiológicos no sobrepasen los 1000 NMP (número más probable) de coliformes fecales por gramo de estiércol procesado y no más de 3 NMP de *Salmonella* por cada 4 gramos de estiércol procesado (AGROCALIDAD, 2013).

La Normativa General para promover y regular la Producción Orgánica–Ecológica–Biológica en el Ecuador, Fertilizantes y acondicionadores de suelo, se visualizan algunos componentes utilizados en la elaboración del abono orgánico bocashi (tabla 3):

Tabla 3. Apartados de la Normativa General para promover y regular la Producción Orgánica-Ecológica-Biológica en el Ecuador.

Componentes empleados en el bocashi	Características
Estiércol de granja	Producto constituido mediante la mezcla de excrementos de animales y de materia vegetal (cama). Su aplicación debe cumplir lo establecido en el artículo correspondiente al uso de estiércol. Debe someterse a un proceso de fermentación o dilución controlada previo a su uso para garantizar inocuidad de los productos comestibles.
Estiércol desecado y gallinaza deshidratada	Su aplicación debe cumplir lo establecido en el artículo correspondiente al uso de estiércol. Debe someterse a un proceso de fermentación o dilución controlada previo a su uso para garantizar inocuidad de los productos comestibles.
Excrementos líquidos de animales	Su aplicación debe cumplir lo establecido en el artículo correspondiente al uso de estiércol. Debe someterse a un proceso de fermentación o dilución controlada previo a su uso para garantizar inocuidad de los productos comestibles.
Residuos domésticos compostados o fermentados	Producto obtenido a partir de residuos domésticos separados en función de su origen, sometido a un proceso de compostaje o a una fermentación anaeróbica para la producción de biogás. Únicamente residuos domésticos vegetales y animales. Únicamente cuando se produzcan en un sistema de recogida cerrado y vigilado, aceptado por el estado miembro. Concentraciones mg/kg de materia seca: cadmio: 0,7; cobre 70; níquel: 25; plomo:45; zinc: 200; mercurio: 0,4; cromo total: 70; cromo VI: 0.
Mezclas de materias vegetales compostadas o fermentadas	Producto obtenido a partir de mezclas de materias vegetales, sometidos a un proceso de compostaje o a una fermentación anaeróbica para la producción de biogás.
Cenizas de madera	A base de madera no tratada químicamente después de la tala.

Fuente: (AGROCALIDAD, 2013).

Elaborado: Autor



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

La primera fase de la investigación fue la obtención de microorganismos autóctonos (EMAs) para la elaboración del bocashi, se realizó en Santo Domingo de los Tsáchilas, en el bosque Kasama, ubicado en el sector Chigüilpe, Km. 2,5 de la vía a Quito, las coordenadas UTM son: 0700451E – 9969409N, con altitud de 560 m.s.n.m. En la misma ciudad se realizó la reproducción de los microorganismos y la elaboración del bocashi en la Granja experimental de investigaciones agropecuarias Mishili del Instituto Superior Tecnológico Tsáchila. Este se ubica en el Km 6 ½ de la vía a Quevedo, las coordenadas son: 0°13'50'' latitud sur y 79°10'40'' de longitud oeste, a 557 m.s.n.m.

La segunda fase de la investigación fue la caracterización microbiológica y molecular, se realizó en el laboratorio de Biología y Microbiología del Campus experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), localizada en el kilómetro 7,5 de la vía Quevedo - El Empalme, cantón Mocache, provincia de Los Ríos, cuya ubicación geográfica es de 1° 6' 28" de latitud sur y 70° 27' 13" de longitud oeste.

En tabla 4, se detalla las condiciones meteorológicas que presenta el sitio donde se desarrolló el proceso experimental.

Tabla 4. Condiciones agroclimáticas de Santo Domingo de los Tsáchilas.

Características Meteorológicas	
Humedad	88%
Precipitaciones/año ⁻¹	3171 mm
Temperatura media	23.8°C
Heliofanía	760 horas/brillo solar

Fuente: INHAMI (2017)

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

3.2.1. EXPERIMENTAL

El estudio posee las cualidades de una investigación de tipo experimental, puesto que se realizó la manipulación directa de las variables en estudio: se capturaron (EMAs) e inocularon al bocashi para determinar la calidad del mismo.

3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

3.3.1. INDUCTIVO

Fue utilizado durante el proceso de captura e inoculación de los microorganismos autóctonos (EMAs) para la elaboración del bocashi.

3.3.2. DEDUCTIVO

Permitió evaluar la calidad en bocashi enriquecido con microorganismos eficientes autóctonos (EMAs). Se evaluaron parámetros químicos, físicos y biológicos mediante la aplicación de procedimientos biotecnológicos.

3.4. FUENTES DE RECOPIACIÓN DE INFORMACIÓN

3.4.1. FUENTES PRIMARIAS

En las fuentes primarias se hizo uso de libros, revistas científicas, documentos oficiales de instituciones públicas, informes técnicos y de investigación de instituciones públicas o privadas, patentes, normas técnicas.

3.4.2. FUENTES SECUNDARIAS

En las fuentes o informaciones secundarias se empleó enciclopedias, antologías, directorios, libros o artículos que interpretan otros trabajos que validen todos los procesos de la investigación.

3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

3.5.1. OBTENCIÓN DE MICROORGANISMOS AUTÓCTONOS PARA LA ELABORACIÓN DEL BOCASHI.

La obtención de EMAs se realizó mediante captura, para ello se colocaron 50 recipientes que contenía en su interior arroz precocido con jugo de carne de res sin aceite y sal, sellados con tela porosa para el ingreso de oxígeno y el material pueda poblarse de microorganismos. Las trampas se colocaron en grupos de 10 en diferentes lugares del bosque donde permanecieron durante 15 día, transcurrido ese tiempo, se retiraron y se revisaron las coloraciones de las poblaciones para la selección de las que no tengas microorganismos dañinos, técnica modificada de Chaparro *et al.* (2020).

3.5.2. REPRODUCCIÓN DE MICROORGANISMOS

Para la reproducción o activación de microorganismos en un tanque de 200 litros se utilizaron yogurt natural, leche y melaza, 4 litros de cada ingrediente, pasta de soya y harina de pescado 4 libras respectivamente, y se

colocó agua dejando los primeros 20 cm del recipiente libres del material, se dejó reposar durante 15 días, teniendo presente que cada 5 días se abriría el recipiente y se removería para que los microorganismos puedan hacer un mejor uso del alimento y escapan gases producto de la fermentación, técnica modificada de BID (2009)Okinawa, Japón. Sus aplicaciones son múltiples: en la agricultura como promotor del crecimiento de las plantas y supresor de enfermedades, en la ganadería disminuyendo los trastornos digestivos típicos de los rumiantes (meteorismo).

3.5.3. ELABORACIÓN DEL BOCASHI

Se elaboró dos abonos orgánicos de tipo bocashi, el primero en fundas grandes de basura extra-gruesas dobles, se colocó polvillo de arroz, afrecho de trigo, carbón activado, hojarasca descompuesta, suelo, melaza con levadura y agua, en el segundo se utilizaron los mismos ingredientes del primer abono, con la diferencia que a este se le incorporó EMAs, es importante destacar que la inoculación líquida se colocó en un aproximado del 30% de humedad, se verificó con la prueba del puño, después se retiró el máximo de aire, se amarro con sunchos y se dejó reposar durante 15 días en un lugar fresco bajo sombra, técnica modificada de FAO (2011) impulsaron la implementación de la tecnología en el campo, así como en la edición de la información aquí presentada. Así mismo, tenemos que reconocer el aporte significativo que realizaron los productores/as que se apropiaron de dicha técnica, quienes contribuyeron a mejorar los conocimientos sobre la elaboración y uso del Bocashi, y la difusión de dicha técnica con otros productores y productoras.(FAO, 2011).

3.5.4. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICO DEL BOCASHI

Se tomó una muestra de 1 kg y se envió al laboratorio de INIAP, para la realización de los respectivos análisis entre los que se obtuvo; el análisis físico: Porcentaje de textura, densidad aparente (D.A), humedad gravimétrica (H.G), a continuación, se describen las metodologías para el proceso de los análisis:

3.5.4.1. DENSIDAD APARENTE (D.A)

Para el cálculo de la densidad aparente la muestra se coloca en una estufa a 105° durante 24 horas para determinar el peso seco, se aplica la siguiente fórmula:

$$Da = \frac{Ms}{Vt}$$

Donde:

Da: Densidad aparente (g/cc).

Ms: Masa de seca a 105 °C (g).

Vt: Volumen total (INIAP, 2011) .

3.5.4.2. HUMEDAD GRAVIMÉTRICA (H.G)

Las muestras se pesaron y se colocaron en una estufa a 105° por 24 horas con la finalidad de tener el peso seco y se utilizó la siguiente fórmula:

$$Hg = \left(\frac{PSH - PSS}{PSS} \right) \times 100$$

Donde:

Hg: Porcentaje gravimétrico de agua (%).

PSH: Peso del suelo húmedo (g).

PSS: Peso del suelo seco (g) (INIAP, 2011).

En el análisis químico se mide: pH, N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn, Zn, B, suma de bases, porcentaje de materia orgánica y textura a través de los siguientes métodos de procesos:

3.5.4.3. PH

El pH se determina con el uso de un potenciómetro en suspensión del abono y agua (1:2.5), se utiliza un electrodo de vidrio ORION (Modelo 91 – 57BN) conectado a un ionómetro ORION EA (Alvarado, 1999).

2.5.4.4. TEXTURA

Basado en el método de Bouyucos Modificado, que se fundamenta en la ley de Stokes para partículas sólidas que caen en un fluido viscoso, para ello, se determina midiendo la densidad de la suspensión por medio de un hidrómetro (Alvarado, 1999).

3.5.4.5 N, P, K, CA, MG, S, FE, CU, MN, ZN, B

Para la determinación mineral del bocashi, se las metodologías de: colorimetría en el caso de N, P y B, para S se usa turbidimetría y para K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn y Zn a través de absorción atómica (INIAP, 2016).

3.5.4.6. PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA

Se basó a través del método de Walkley – Black, fundamentado bajo

oxidación en frío del carbonato por un exceso de dicromato de potasio en medio sulfúrico y retrovaloración del agente oxidante con sal de Morh (Alvarado, 1999).

3.5.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL BOCASHI

Del bocashi se tomaron 10 muestras de 10 g y se realizaron disoluciones seriadas en agua peptonada estéril. Se cultivó por vaciado 1 mL de cada disolución por duplicado en agar extracto de suelo. Se incubó a temperatura ambiente por 1 semana y posteriormente, se seleccionaron las placas con crecimiento de colonias bacterianas aisladas. Cada una de las colonias se separó en agar extracto de suelo para obtener cultivos puros. A partir de cada cultivo puro se realizó una descripción de las características morfológicas por medio de microscopía y las colonias obtenidas se caracterizaron por medio de la tinción de gran (Him *et al.*, 2020). Además, se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC) totales por gramo de muestra. A cada aislamiento se le asignó un código para su almacenamiento en el laboratorio; con microorganismos EM, sin microorganismos SM.

3.5.5.1. PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Para la caracterización de los microorganismos eficientes autóctonos (EMAs) se realizaron distintas pruebas bioquímicas, las cuales se mencionan a continuación:

3.5.5.1.1. ACTIVIDAD CATALÍTICA

La presencia de catalasa fue verificada cualitativamente por el método descrito por Clarke y Cowan (1952), donde, se añadió H_2O_2 al 6% sobre las colonias cultivadas en placas LB, las efervescencias de O_2 liberadas de las colonias bacterianas indican la presencia de actividad catalasa.

3.5.5.1.2. ACTIVIDAD UREOLÍTICA

Para la estimación cualitativa de la producción de ureasa, el aislado bacteriano se cultivó en base de agar úrea (Himedia) suplementado con 5 mL de solución de úrea al 40% en 100 mL de medio, se dejó incubar a 28°C durante 48 horas. El cambio de color amarillo a rosa indicó hidrólisis de urea (Lyne y Grange, 1995).

3.5.5.1.3. ACTIVIDAD SOLUBILIZADORA DE FÓSFORO

La solubilización de fosfato tricálcico por el aislado se realizó utilizando el

método desarrollado por Pikovskaya (1948). Para la estimación cualitativa, el aislado se inoculó puntualmente en agar de Pikovaskya (HiMedia) y se incubó a 27 ± 2 °C y se determinó la presencia o ausencia del halo transparente correspondiente a la solubilización de fosfato después de 7 días de incubación.

3.5.5.1.4. ACTIVIDAD AMILASA

La prueba de producción de amilasa se realizó según lo descrito por Aneja (2007). Se empleó una colonia de cada cepa en estudio en medio de agar almidón (SAM). Las placas se incubaron a 37 ° C durante 48 h. Las observaciones se registraron por presencia y ausencia de zona clara alrededor de la colonia de bacteria. La zona clara alrededor de la colonia bacteriana indica una prueba positiva para la producción de amilasa.

3.5.5.1.5. ACTIVIDAD CELULÍTICA

La actividad celulasa de los cultivos bacterianos se examinó mediante un ensayo en placa de doble capa utilizando tinción con rojo Congo como describen Mateos *et al.*(1992). Las placas se inocularon mediante la adición de 10 µL de una suspensión bacteriana ($1,5 \times 10^9$ UFC/mL) y se incubaron a 28 ° C durante 5 días. Se evaluó por ausencia y presencia del halo de inhibición.

3.5.5.2. CONCENTRACIÓN CELULAR INDIVIDUAL DE LOS AISLADOS BACTERIANOS PROCEDENTES DE BOCASHI

La concentración celular bacteriana fue determinada mediante el método de Clarke y Cowan (1952), se tomó 50 uL de una concentración celular de 1×10^8 y se transfirió a 50 mL de cultivo LB, se dejó en agitación a 180 rpm a 28°C durante 24 horas. Se realizaron diluciones seriadas y se plaquearon 20 uL por individual en cultivo LB sólido, finalmente se dejó incubar a 28°C en una incubadora marca Memmert y se contabilizaron las colonias a las 24 horas. El contenido celular, se lo determino mediante la fórmula:

$$\frac{UFC}{ml} = \frac{UFC}{ml \text{ plaqueado}} \times \text{Factor de dilución}$$

3.5.6. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL BOCASHI

3.5.6.1. EXTRACCIÓN DE ADN

Para el siguiente ensayo, se seleccionaron las poblaciones bacterianas con mayores actividades bioquímicas y concentraciones de UFC. Se inoculó 1 colonia de bacteria pura de manera individual en 30 mL medio de cultivo líquido LB durante 24 horas a 160 rpm, para realizar la extracción de DNA se estandarizó una concentración de 1×10^8 UFC. Se empleó un Kit comercial PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, k1820-01, CA, USA) siguiendo la metodología de aislamiento de bacterias GRAM negativas, donde se siguieron las instrucciones de la casa comercial, las cuales consisten en: Obtener por centrifugación a 10,000 rpm por min el paquete celular sembrado toda la noche en medio líquido LB a una temperatura de 37° C.

Posteriormente, se realizó una lisis celular con 80 μ L de PureLink®Tampón de digestión genómica y 20 μ L de proteínasa K puestos a incubación a 55 ° C con agitación ocasional hasta por un periodo de 4 horas, pasado el tiempo, se agregó a cada muestra 20 μ L de RNasa A y se mezcló bien con un vórtex y se incubó a temperatura ambiente durante 2 minutos. Se agregó 200 μ L de PureLink®Tampón de unión / lisis genómica y se mezcló bien con vórtex para obtener una solución homogénea, después se añadió 200 μ L de etanol al 96-100% al lisado, se mezcló bien agitando en vórtex durante 5 segundos para obtener una solución homogénea, la solución se pasó por columna y se realizó una centrifugación a 10,000 rpm. Posteriormente, se procedió hacer el lavado de ADN, agregando 500 μ L de buffer de lavado 1 y centrifugado a 10,000 rpm por 1 minuto, se agregó 500 μ L de buffer de lavado 2 y centrifugado a velocidad máxima durante 3 minutos a temperatura ambiente, se desechó el tubo de recolección y se procedió hacer la elución de ADN agregando 100 μ L de PureLink®Tampón de elución genómico a la columna, se incubó a temperatura ambiente durante 1 minuto, luego se centrifugó la columna a velocidad máxima durante 1 minuto a temperatura ambiente. El tubo contiene ADN purificado, se retiró, se desechó la columna y finalmente se almacenó el ADN purificado a -20 ° C, hasta su posterior uso (Invitrogen, 2007).

3.5.6.2. ELECTROFORESIS

Para la visualización del DNA genómico, se utilizó un gel de agarosa al 1.5% con TAE 1X (0.75 gr de Agarosa y 50 ml de TAE) con intercalador

iónico Sybr safe Thermo Fisher specific (4 uL/ 50mL de TAE), en cada pocillo del gel se agregó una proporción de 3 uL de DNA y 2 uL de Blue Juice, se empleó un voltaje de 100V/h^{-1} durante 30 minutos, posteriormente, el gel se visualizó en un transluminador de luz UV cleaver scientific modelo DUOVIEW y finalmente, se fotografió con una cámara Canon T6.

3.5.6.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos fueron analizados en diferentes programas estadísticos: en el programa INFOSTAT se elaboró el dendograma correspondiente a la agrupación de las cepas bacterianas, el error estándar (EE) y Excel 2016 los gráficos estadísticos.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DEL BOCASHI

Los valores de la composición física del bocashi es similar, tanto con EMAs como sin EMAs. En este contexto, el porcentaje de humedad gravitacional (H.G.) en Bocashi con EMAs fue correspondiente a 33% con un pH de 5.0 y una textura de Franco Arenoso (Tabla 5). El bocashi sin EMAs mantuvo un valor porcentual en H. G. de 32, pH de 5,0 y una textura Franco-Arenosa (Tabla 5).

Tabla 5. Composición física de los tratamientos en estudio, con y sin inoculación de microorganismos.

Tratamientos	H.G. %	pH	Textura
Bocashi con microorganismos	33	5.0	Franco-arenoso
Bocashi sin microorganismos	32	5.0	Franco-arenoso

Elaboración: Autor.

Nota: H.G. % humedad gravitacional

4.2. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL BOCASHI

La característica química de un bocashi ayuda a la disposición de nutrientes para los microorganismos y plantas a partir de generar condiciones adaptativas a los seres vivos. En base a estas condiciones, el bocashi con microorganismos EMAs tuvo un elevado incremento de M. O. (23 %) en comparación al bocashi sin EMAs (19.8%), los valores de nitrógeno son semejantes en cada uno de los bocashi (11 %). En macronutrientes como el P, K, Ca, Mg y S el bocashi sin EMAs mantiene porcentajes de (0.43, 0.90, 0.97, 0.40, 0.26 %), resultaron ser los valores más altos en comparación con EMAs, respectivamente. Finalmente, los micronutrientes como el Cu, Fe, mantuvieron valores similares en los diferentes tratamientos (25 y 1050 ppm) y el Bocashi con EMAs en B, Zn y Mn mantuvo los valores más altos con (21, 70 y 308 ppm) (Tabla 6).

Tabla 6. Composición química de los tratamientos, con y sin inoculación de microorganismos.

TRATA- MIENTOS	Ph	CONCENTRACIÓN EN %								ppm				
		MO	H.G.	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Zn	Cu	Fe	Mn
Bocashi con EMAS	5.0	23	33	11	0.43	0.90	0.97	0.40	0.26	17	69	25	1050	301
Bocashi Sin EMAS	5.0	19.8	32	11	0.51	1.44	0.99	0.42	0.27	21	70	25	1050	308

Elaboración: Autor.

4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

4.3.1. CONCENTRACIÓN CELULAR DE BACTERIAS EN BOCASHI

El contenido celular de las bacterias en un bocashi puede variar en dependencia del material que está compuesta, además, de las condiciones físicos, químicas y microbiológicas que se relaciona. En el presente estudio, el contenido celular del bocashi sin EMAS fue de $5.60E+04$, sin embargo, los valores con EMAS fueron inferiores, con $3.20E+04$. En este contexto, la inoculación de microorganismos EMAS afectó la concentración celular del bocashi (Figura 3).

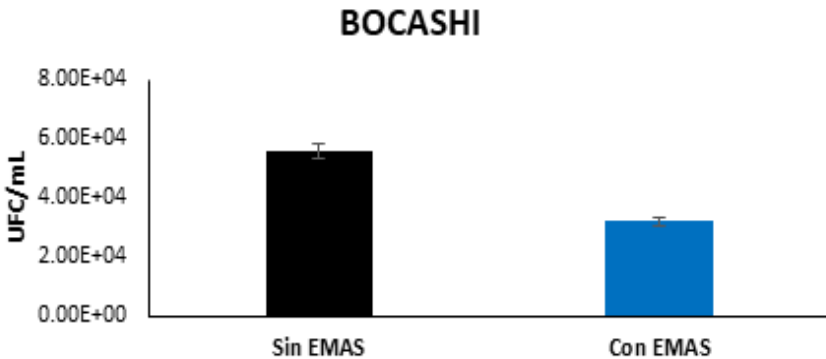


Figura 3. Contenido celular de los tratamientos en estudio.

4.3.2. ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE LAS BACTERIAS EN ESTUDIO

El análisis morfológico es una de las características importantes en la caracterización de un microorganismo. Las cepas correspondientes a los

aislados EM-3, SM-5 tuvieron una forma irregular, a su vez, la cepa SM-4 mantuvo forma puntiforme, en las demás cepas en estudio, se determinó una forma circular. La elevación de las cepas en su mayoría fue convexa excepto la cepa SM-7 donde la elevación fue plana. El margen de las cepas fue en su totalidad entera, finalmente la reacción de gram el 100% de las cepas fue gramnegativa (Tabla 7).

Tabla 7. Caracterización morfológica de las cepas en estudio.

AISLAMIENTO	FORMA	ELEVACIÓN	MARGEN	REACCIÓN DE GRAM
EM1	Circular	Convexa	Entero	-
EM2	Circular	Convexa	Entero	-
EM3	Irregular	Convexa	Entero	-
EM4	Circular	Convexa	Entero	-
EM5	Circular	Convexa	Entero	-
EM6	Circular	Convexa	Entero	-
EM7	Circular	Convexa	Entero	-
EM8	Circular	Convexa	Entero	-
EM9	Circular	Convexa	Entero	-
EM10	Circular	Convexa	Entero	-
SM1	Circular	Convexa	Entero	-
SM2	Circular	Convexa	Entero	-
SM3	Circular	Convexa	Entero	-
SM4	Puntiforme	Convexa	Entero	-
SM5	Irregular	Convexa	Entero	-
SM6	Circular	Convexa	Entero	-
SM7	Circular	Plana	Entero	-
SM8	Circular	Convexa	Entero	-
SM9	Circular	Convexa	Entero	-
SM10	Circular	Convexa	Entero	-

Elaboración: Autor.

4.3.3. ANÁLISIS BIOQUÍMICO DE LOS AISLADOS BACTERIANOS

Las pruebas bioquímicas son procesos que permiten conocer la producción de una sustancia extracelular por parte de un microorganismo. La prueba

de ureolítica permite conocer la liberación de ureasa y transformar la urea en amonio. La cepa EM-8 y SM-1 tuvieron mayor capacidad ureolítica en comparación a las cepas SM-8 y SM-10 que tuvieron reacción, pero en baja proporción, las demás cepas no produjeron la enzima ureasa. La actividad catalítica de las cepas en este estudio fue variable, la cepa E-3, EM-4, EM-7, EM-8, EM-9, EM-10, SM-7 y SM-9 tienen mayor producción de catalasa, las demás cepas reaccionaron en menor proporción, la cepa EM-5 no tiene actividad catalasa. La actividad proteolítica interviene en el desdoblamiento de la materia orgánica en componentes inorgánico, además de tener capacidad antifúngica y antimicrobiana.

Las cepas SM-1 a SM-10, EM-2, EM-6 y EM-9 tuvieron mayor actividad proteolítica, la cepa EM-8 no presentó. La actividad fosfatasa es una enzima que solubiliza el fósforo insoluble, en este contexto, la cepa SM-1, SM-5, SM-6, SM-9 y EM10 mantuvieron una alta capacidad en solubilización de fósforo. El almidón es uno de los componentes. No existió solubilización de ninguna cepa a la celulosa (Tabla 8).

Tabla 8. Caracterización bioquímica de las cepas en estudio.

Cepa	Urea	Catalasa	Proteasa	Fosfatasa	Almidón	Celulosa
EM-1	0	1	1	1	1	0
EM-2	0	1	2	1	1	0
EM-3	0	2	1	0	1	0
EM-4	0	2	1	0	2	0
EM-5	0	0	1	0	2	0
EM-6	0	1	2	2	2	0
EM-7	0	2	1	1	2	0
EM-8	2	2	0	0	1	0
EM-9	0	2	2	1	1	0
EM-10	0	2	1	1	2	0
SM-1	2	1	2	2	2	0
SM-2	0	1	2	1	1	0
SM-3	0	0	2	1	1	0
SM-4	0	1	2	1	2	0
SM-5	0	1	2	2	1	0
SM-6	0	1	2	2	2	0

SM-7	0	2	2	1	1	0
SM-8	1	1	2	1	2	0
SM-9	0	2	2	2	2	0
SM-10	1	1	2	2	2	0

Nota: 0: sin reacción, 1: baja reacción, 2: alta reacción.
Elaboración: Autor.

4.3.4. ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS DE LOS MICROORGANISMOS EN ESTUDIO

El análisis de conglomerados permite agrupar cepas bacterianas, que tienen una similitud o diferencias entre ellas. La agrupación de aislados bacterianos procedentes de bocashi sin EMAs y con EMAs, estuvo conformado por 2 grandes grupos. Las cepas SM-2 y EM2 mantuvieron características similares, así mismo la cepa EM4 con EM7, y SM8 con SM-10. Finalmente, existió un distanciamiento en la cepa SM7, esta no guardó similitud con las cepas en estudio, por su distanciamiento evolutivo (Figura 4).

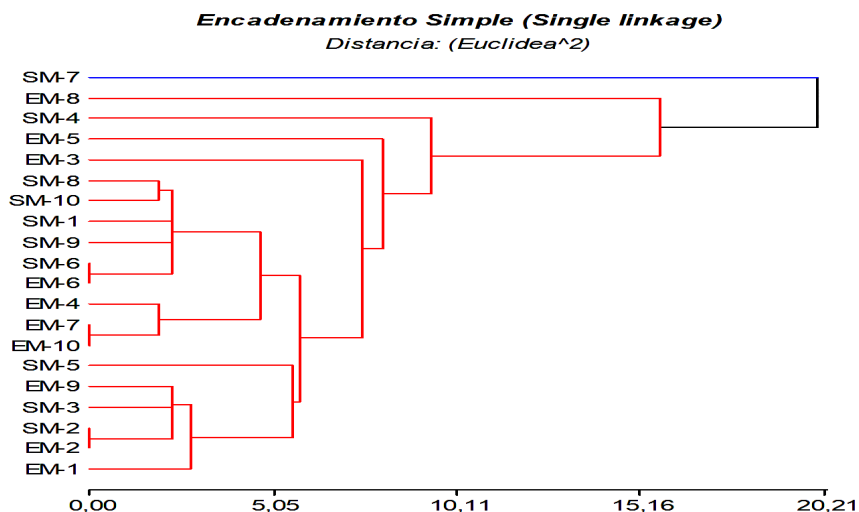


Figura 4. Agrupamiento de los aislados bacterianos en estudio procedente de bocashi por el encadenamiento simple.

4.3.5. CONCENTRACIÓN CELULAR DE LOS AISLADOS BACTERIANOS

La concentración celular es importante para determinar el tiempo del

crecimiento bacteriano. En la figura 5 se muestra el contenido de UFC/mL a las 24 horas. El mayor contenido de UFC/mL correspondió a la cepa SM2 (bocashi sin EMAs), mantuvo valores de $1,50E+11$. La cepa EM-7 correspondiente al bocashi con EMAs obtuvo la mayor concentración celular con valores de $1,12+E10$, respectivamente.

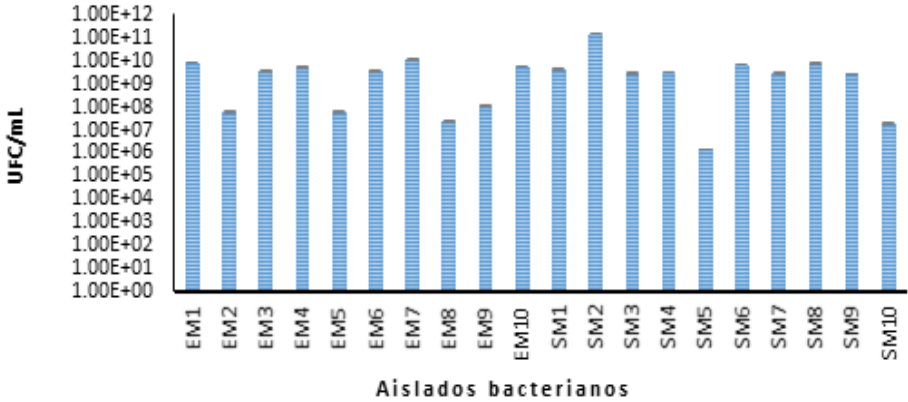


Figura 5. Contenido celular de los aislados bacterianos en estudio procedente de bocashi.

4.3.6. EXTRACCIÓN DE DNA DE LAS CEPAS BACTERIANAS EN ESTUDIO

El DNA es la fuente de información genética de los seres vivos. En la presente investigación, la visualización por electroforesis mostró que las ocho cepas de bacterias presentaban ADN libres de agentes contaminantes siendo adecuado para la realización de la PCR en especial la identificación del ARNr 16s (Figura 6).

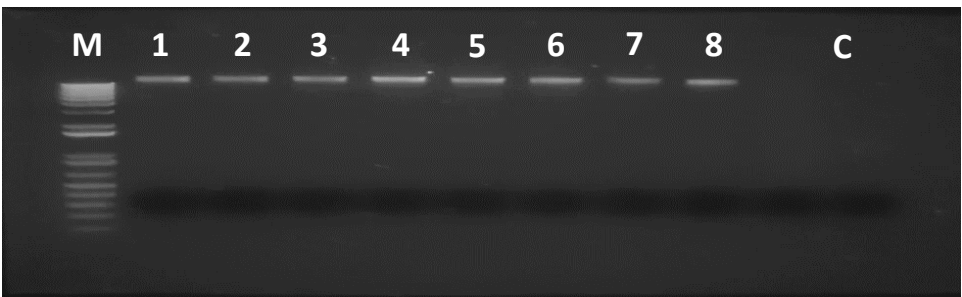


Figura 6. Visualización mediante electroforesis del ADN obtenido de los aislados bacterianos procedentes de bocashi en un gel de agarosa al 1.5% donde M: Marcador de peso molecular 1Kb, carriles 1 al 8: muestras problema, C: control negativo.

DISCUSIÓN

Anualmente se produce una cantidad considerable de residuos agrícolas, pero solo una cierta parte de estos es aprovechada directamente para la alimentación, se deja una gran cantidad de desechos, los cuales se convierten en un potencial de contaminación ambiental. El aprovechamiento de estos residuos como medio eficiente de reciclaje racional de nutrimentos, mediante su transformación en abonos orgánicos, ayuda al crecimiento de las plantas y contribuye a mejorar o mantener muchas propiedades del suelo. Los beneficios del uso de enmiendas orgánicas como el Bocashi, son ampliamente conocidos a nivel mundial, aunque la literatura científica es poco precisa sobre contenidos nutricionales y prácticamente no se hace referencia a la carga microbial existente en estos materiales (Ramos y Terry, 2014).

En el presente trabajo investigativo se pudo observar que tanto los Bocashi con EMAs y los Bocashi sin EMAs presentan porcentajes de humedad gravitacional (H.G.) similares con 33 y 32%, respectivamente. Estos valores de humedad difieren a los valores encontrados por Gutiérrez *et al.* (2018) en el desarrollo de un abono fermentado tipo bocashi con el uso de gallinaza, el porcentaje de humedad arroja valores de 50.87%. A pesar de los valores inferiores encontrados en este proyecto se asume que a partir de 20.1% de (H.G.) se considera mayor al valor referido en la norma, lo cual es un indicativo de que el Bocashi atrae los vectores si no es estabilizada. Estrada (2005) recomienda mantener la humedad no superior a los valores de 50 y 60% ya que un exceso produce zonas anaerobias y en consecuencia malos olores y retraso del proceso. El déficit detiene el proceso microbial.

Las características físicas y químicas de un abono varían en función de la naturaleza de los materiales originales a partir de los cuales se producen. Mendivil *et al.* (2018) en su elaboración de un abono orgánico tipo Bocashi a partir de aserrín, mango y plátano incluyendo a todas sus preparaciones estiércol de bovino al 33.33%, indica que el pH de las mezclas de bocashi fue altamente alcalino con un rango de 9.39-9.80. Sarmiento *et al.* (2019) Arequipa - Peru. The treatments evaluated were 3 levels of bocashi: 4, 6 and 8 t·ha⁻¹ and 2 levels of EM: 1 and 2 l·t of bocashi-1 that in combination generated 6 treatments with 3 repetitions for each one; the design of randomized complete blocks with 3x2 factorial arrangement was used. The application of treatments was performed before plant transplantation (50% of total dose en su estudio de Bocashi con microorganismos eficientes,

observó una tendencia a la disminución del pH hacia niveles cercanos a la neutralidad con rangos de 7.45-7.64. Hu *et al.* (2018) N sequestration and improve soil fertility more effectively than inorganic fertilizers, and that in particular effective microorganism (EM bajo el uso de microorganismos eficientes presenta un pH ácido con un rango de 5.2-6.0, aunque en su preparación se encuentra presencia de estiércol de ganado, forma parte únicamente del 5% de la preparación. En todas las investigaciones realizadas se pudo constatar que la implementación de estiércol aumentó los niveles de pH, ya que este posee un pH que oscila entre los 6.5-8.5, aumenta en gran medida la alcalinidad de los preparados e impide la debida absorción de algunos elementos indispensables para el óptimo desarrollo de las plantas. En el presente proyecto todos los materiales utilizados para la preparación del Bocashi fueron de origen vegetal presentando tanto en el caso de Bocashi con EMAs como en el de Bocashi sin EMAs un pH de 5.0; estos niveles pueden causar la liberación de proteínas para su debida absorción que provienen del abono incorporado, incrementando la disponibilidad de nutrientes.

Ramos *et al.* (2014) en su producción de Bocashi elaborado a partir de residuos de la producción de plátanos, demostró que las características químicas como lo son la presencia de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) demostraron valores similares a los de la presente investigación, son estables desde los 30-150 días. El elemento más destacable es el K debido al tenerse en cuenta que el plátano absorbe en gran cantidad este elemento y los residuos de este cultivo son los que predominan en la elaboración de este abono. En cuanto a los contenidos de calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S) los elementos de Ca y Mg presentaron valores superiores con un promedio de 1.75% y 1.12%, respectivamente, mientras que en el caso de S se pudo observar un menor porcentaje con 0.15%.

La textura del suelo al ser tipo franco arenoso provoca que exista una mayor acumulación de los compuestos ya sean benéficos o no (Romero y Echeverría, 2016); la presencia de este tipo de suelo en esta investigación potencio la concentración bacteriana en los Bocashi. Villagómez (2014) en su elaboración de bocashi a partir de residuos de animales procedentes del camal presentó una concentración de 6.6×10^6 UFC/mL en el recuento de bacterias. Romero y Echeverría (2016) en su estudio de biorremediación de suelos contaminados con pesticidas a través de bocashi encontraron una concentración de 4.6×10^5 UFC/g de suelo. Mientras este estudio

el contenido celular del bocashi sin EMAs corresponda a $5.60E+04$, sin embargo, los valores con EMAs son inferiores, con $3.20E+04$, la inoculación de microorganismos EMAs afecta la concentración celular del bocashi. Cuando el pH baja de 5 la concentración de microorganismos se ve afectada por el estado ácido del suelo.

Gallut (2016) en su análisis de la morfología colonial de bacterias provenientes de un sistema hidrotermal, presento un 60% de bacterias con forma circular y un 40% de bacterias con forma irregular, con una presencia de 80% de bacterias gram positivas y un 20% de bacterias gram negativas; en suelo proveniente de bananera Córdova et al. (2009) encontró un 100% de bacterias del tipo gram negativas. Mientras que, en este estudio el 90% de las bacterias presentan morfología circular, siendo el 5% tiene forma irregular y puntiforme, respectivamente; con el 100% de cepas gram negativas. Las diferencias entre los tipos de bacterias del tipo gram encontradas son atribuibles al tipo de suelo donde se realizó los diferentes estudios.

Los organismos presentes durante el proceso de fabricación del bocashi varían un poco, dependen 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% 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 (Baltodano, 2002)



CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Los valores de la composición física del bocashi fueron similares, tanto con EMAs como sin EMAs, en este contexto, el porcentaje de humedad gravitacional (H.G.) en Bocashi con EMAs fue correspondiente a 33% con un pH de 5.0 y una textura de Franco Arenoso. El bocashi sin EMAs mantuvo un valor porcentual en H. G. de 33%, pH de 5,0 y una textura Franco-Arenosa. La característica química del bocashi con EMAs tuvo un elevado incremento de M. O. (23 %) en comparación al bocashi sin EMAs (19.8%), los valores de nitrógeno fueron semejantes en cada uno de los bocashi (11 %), en macronutrientes como el P, K, Ca, Mg y S el bocashi sin EMAs mantuvo porcentajes de (0.43, 0.90, 0.97, 0.40, 0.26 %) siendo valores más altos en comparación con EMAs respectivamente. Finalmente, los micronutrientes como el Cu, Fe, mantuvieron valores similares en los diferentes tratamientos (25 y 1050 ppm) y el Bocashi con EMAs en B, Zn y Mn mantuvo los valores más altos con (21, 70 y 308 ppm).

- El mayor contenido de UFC/mL correspondió a la cepa SM2 (bocashi sin EMAs), mantiene valores de $1,50E+11$. La cepa EM-7 correspondiente al bocashi con EMAs obtuvo la mayor concentración celular con valores de $1,12+E10$ respectivamente.

- Se extrajo ADN genómico puro de diez cepas bacterianas aisladas del bocashi enriquecido lo cual, servirá para seguir con la caracterización molecular a nivel secuenciación.

RECOMENDACIONES

- Aplicar diferentes dosis de EMAs en el bocashi y determinar distintos componentes del bocashi que permitan que los EMAs actúen de mejor manera.
- Realizar ensayos a nivel de campo para determinar la eficacia del bocashi enriquecido con EMAs.
- Caracterizar molecularmente los microorganismos encontrados en el estudio, esto permitirá conocer cuáles son los microorganismos.

BIBLIOGRAFÍA

- AGROCALIDAD. (2013). Instructivo de la Normativa General para promover y regular la producción orgánica - ecológica - biológica en el Ecuador (Vol. 5). Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca.
- Altieri, M., & Nicholls, C. (2020). Agroecology and the emergence of a post COVID-19 agriculture. *Agriculture and Human Values*, 37(3), 525-526. <https://doi.org/10.1007/s10460-020-10043-7>
- Altieri, M., Nicholls, C., Alan, P., Sanmartín, J., y Chalmers, A. (2000). Agroecología: Teoría y práctica para una agricultura sustentable. *Diario de campo*, 1-16.
- Alvarado, P. (1999). Determinación de un método para evaluar los requerimientos de cal en suelos ácidos de origen volcánico y no volcánico del Ecuador.
- Aneja, K. (2007). *Experiments in microbiology, plant pathology and biotechnology*. New Age International.
- Araujo, M., & Siqueira, C. (2021). Pesticides: The hidden poisons on our table. *Cadernos de Saude Publica*, 37(2), 1-5. <https://doi.org/10.1590/0102-311x00004321>
- Armalytė, J., Skerniškytė, J., Bakienė, E., Krasauskas, R., Šiugždiniėnė, R., Karevieniė, V., Kerzieniė, S., Klimieniė, I., Sužiedėlienė, E., y Ružauskas, M. (2019). Microbial diversity and antimicrobial resistance profile in microbiota from soils of conventional and organic farming systems. En *Frontiers in Microbiology* (Vol. 10, Número APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00892>
- Asamblea Constituyente del Ecuador. (2008). *Constitución de la República del Ecuador*. Montecristi: Asamblea Constituyente.
- Aznar, J., Rodríguez, M., Muñoz, J., & Agugliaro, F. (2019). Worldwide research trends on sustainable land use in agriculture. 87.

- Backert, S., & Grohmann, E. (2017). Current Topics in Microbiology and Immunology - Type IV Secretion in Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria.
- Baltodano, P. (2002). Determinación de la calidad microbiológica del abono orgánico bocashi durante el proceso de fabricación y almacenamiento. Universidad de Costa Rica.
- Barrera, J., Cabrales, E., & Sáenz, E. (2017). Respuesta del maíz híbrido 4028 a la aplicación de enmiendas orgánicas en un suelo de Córdoba – Colombia. *Orinoquia*, 21(2), 38-45. <https://doi.org/10.22579/20112629.416>
- Bhatti, A., Haq, S., y Bhat, R. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis*, 111, 458-467. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.036>
- BID. (2009). Manual Práctico de Uso de EM. I Banco Interamericano de Desarrollo como Administrador del Fondo Especial de Japón, 35.
- Boechat, C., Santos, J., & Accioly, A. (2013). Net mineralization nitrogen and soil chemical changes with application of organic wastes with 'Fermented Bokashi Compost'. *Acta Scientiarum. Agronomy*. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i2.15133>
- Botelho, S. (2020). Fertilizantes orgânicos.
- Boudet, A., Boicet, T., Santos, R., & Medina, Y. (2017). Efecto sobre el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de diferentes dosis de abono orgánico bocashi en condiciones agroecológicas. Centro Agrícola.
- Camino, C., Espín, S., Samaniego, I., y Carpio, C. (2011). Elaboración y uso de abonos orgánicos. *Iniap*, 5, 10-43.
- Chaparro, E., Vera, M., Barahona, J., & Herrera, F. (2020). Utilización de microorganismos eficientes para la elaboración de compost a partir de residuos orgánicos. *Sincretismo*, 1(1), 45-48.
- Charles, M. (2020). Détermination des cinétiques de minéralisation d ' en grais organiques. *Mfe Ucl*.
- Chew, K., Chia, S., Yen, H., Nomanbhay, S., Ho, Y., & Show, P. (2019). Transformation of biomass waste into sustainable organic fertilizers. *Sustainability (Switzerland)*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/su11082266>
- Clarke, P., & Cowan, S. (1952). Biochemical methods for bacteriology. *Microbiology*, 6(1-2), 187-197.
- Constitución de la República del Ecuador, (2008). https://www.oas.org/juridico/pdfs/mesicic4_ecu_const.pdf
- Córdova, Y., Rivera, M., Ferrera, R., Obrador, J., & Córdova, V. (2009).

- Detección de bacterias benéficas en suelo con banano (*Musa AAA Simmonds*) cultivar «Gran enano» y su potencial para integrar un biofertilizante. *Universidad y Ciencias Trópico Húmedo*, 25(3), 253-265.
- Cotrina-Cabello, V., Alejos-Patiño, I., Cotrina-Cabello, G., Córdova-Mendoza, P., & Córdova-Barrios, I. (2020). Efecto de abonos orgánicos en suelo agrícola de Purupampa Panao, Perú. *Centro Agrícola*, 47(2), 31-40.
- Durán-Lara, E., Valderrama, A., & Marican, A. (2020). Natural organic compounds for application in organic farming. *Agriculture (Switzerland)*, 10(2), 1-22. <https://doi.org/10.3390/agriculture10020041>
- Escobar, N., Arenas, N., & Marquez, S. (2020). Characterization of microbial populations associated with different organic fertilizers. *Resources Policy*, 1-10. <https://doi.org/10.30486/ijrowa.2020.1890242.1022>
- Estrada, M. (2005). Revisión Manejo y procesamiento de la gallinaza . *Revista Lasallista de Investigación*, 2(1), 43-48.
- Eyre, A., Wang, M., Oh, Y., & Dean, R. (2019). Identification and characterization of the core rice seed microbiome. *Phytobiomes Journal*, 3(2), 148-157. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-01-19-0009-R>
- FAO. (2011). Elaboracion y uso del bocashi. *Ministerio De Agricultura Y Ganadería*, 1-12.
- FAO. (2018). Los 10 Elementos de la agroecología, guía para la transición hacia sistemas alimentarios y agrícolas sostenibles. *Onu*, 12.
- Fath, B., & Jørgensen, S. (2020). Managing global resources and universal processes.
- Flora, Y., Rabha, P., Shinde, A., Jha, P., & Jobby, R. (2021). Sustainable agriculture reviews 52. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-73245-5_13
- Frigaard, N. (2016). Biotechnology of anoxygenic phototrophic bacteria. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 156, 139-154. https://doi.org/10.1007/10_2015_5006
- GAD Municipal Santo Domingo. (2015). Plan de desarrollo y ordenamiento territorial Santo Domingo I PDOT 2030 (Primera). GAD Municipal Santo Domingo.
- Gallut, P. (2016). Aislamiento y cultivo de microorganismos asociados a oncoides de manantiales hidrotermales de Santispac, Bahía Concepción, B.C.S., México. *Centro de Investigación Biológicas del Noroeste, S.C.*

- Garro, J., & Sierra, D. (2017). El suelo y los abonos orgánicos. Sector Agro Alimentario, 182.
- Ginting, S. (2019). Promoting Bokashi as an Organic Fertilizer in Indonesia: A Mini Review. *International Journal of Environmental Sciences y Natural Resources*, 21(4), 142-144. <https://doi.org/10.19080/ijesnr.2019.21.556070>
- Gondchawar, N., & Kawitkar, R. (2016). IoT based smart agriculture. *International Journal of Advanced Research in Computer and Communication Engineering*, 5(6), 838-842. <https://doi.org/10.17148/IJARCCCE.2016.56188>
- Gutiérrez, N., Hernández, E., Torres, J., Osorio, A., & Rico, A. (2018). Desarrollo de un abono fermentado tipo bocashi aplicado en el agrosistema del chayote. En Universidad Veracruzana. Universidad Veracruzana.
- Helmut, K., y Fröhlich, J. (2017). Lactic Acid Bacteria.
- Him, J., Ábrego, I., & Aldrete, M. (2020). Identificación y capacidad degradadora de bacterias aisladas de suelos contaminados con hidrocarburos de desechos, Panamá. *Revista Colegiada de Ciencias*, 1(1), 30-42.
- Holt, E., Shattuck, A., & Van Lammeren, I. (2021). Thresholds of resistance: agroecology, resilience and the agrarian question. *Journal of Peasant Studies*, January. <https://doi.org/10.1080/03066150.2020.1847090>
- Hu, C., Xia, X., Chen, Y., & Han, X. (2018). Soil carbon and nitrogen sequestration and crop growth as influenced by long-term application of effective microorganism compost. *Chilean journal of agricultural research*, 78(1), 13-22. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392018000100013>
- Huerta, E., Cruz, J., & Aguirre, L. (2019). La apreciación de abonos orgánicos para la gestión local comunitaria de estiércoles en los traspatios. *Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 29(53). <https://doi.org/10.24836/es.v29i53.702>
- Ilahi, H. (2021). Accentuating the impact of inorganic and organic fertilizers on agriculture crop production: a review. *Indian Journal of Pure y Applied Biosciences*, 9(1), 36-45. <https://doi.org/10.18782/2582-2845.8546>
- INHAMI. (2017). Anuario meteorológico № 53-2013. En Instituto Nacional de Meteriología e Hidrología (Número 52). http://www.serviciometeorologico.gob.ec/docum_institucion/anuarios/meteorologicos/Am_2013.pdf

- INIAP. (2011). Efecto de la vinaza en el rendimiento de una mezcla forrajera en un suelo Andisol, al tercer año de aplicación.
- INIAP. (2016). Agroforestería Sostenible Agroforestería Sostenible en la Amazonía Ecuatoriana , N ° 2.
- Intriago, R., & Gortaire, R. (2016). Agroecología en el Ecuador. Agroecología en el Ecuador. Proceso Historico, logros y desafios, 11(2), 95-103.
- Invitrogen. (2007). PureLink™ Genomic DNA Mini Kit. 1-4. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/purelink_genomic_mini_man.pdf
- Joshi, H., Duttand, S., Choudhary, P., & Mundra, S. (2019). Role of Effective Microorganisms (EM) in Sustainable Agriculture. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 8(03), 172-181. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.024>
- Ley de Gestión Ambiental. (2004). Registro Oficial Suplemento 418,(2004, 10 de septiembre). H. Congreso Nacional.
- Lima, A., Silva, E., & Iwata, B. (2019). Agriculturas e agricultura familiar no Brasil: uma revisão de literatura. Retratos de Assentamentos. <https://doi.org/10.25059/2527-2594/retratosdeassentamentos/2019.v22i1.332>
- Loarte, L., Apolo, V., & Alvarez, P. (2018). Efecto del tiempo de maduración y de microorganismos eficientes en el contenido nutricional del bocashi. CEDAMAZ, 8(1), 30-36.
- Luna, M., & Mesa, J. (2016). Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. 31-40.
- Lyne, P., & Grange, J. (1995). Collins and Lyne's microbiological methods. Butterworth-Heinemann.
- Marín, J. (2019). Impacto del Uso de Biofertilizantes a Base de Residuos Orgánicos en los Suelos. Conciencia Tecnológica, 58(58), 1-10.
- Mateos, P., Jimenez, J., Chen, J., Squartini, A., Haack, S., Martinez, E., Hubbell, D., & Dazzo, F. (1992). Cell-associated pectinolytic and cellulolytic enzymes in *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii. Applied and environmental microbiology, 58(6), 1816-1822.
- Meena, V., Maurya, B., Verma, J., & Meena, R. (2016). Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture. Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture, 1-331. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2>
- Meena, V. S., Mishra, P. K., Bisht, J. K., & Pattanayak, A. (2017). Agriculturally important microbes for sustainable agriculture. En Agriculturally

- Important Microbes for Sustainable Agriculture (Vol. 2). <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5343-6>
- Meléndez, M., Flor, L., Sandoval, M., Vasquez, W., & Racines, M. (2021). *Vaccinium* spp.: Karyotypic and phylogenetic characteristics, nutritional composition, edaphoclimatic conditions, biotic factors and beneficial microorganisms in the rhizosphere. *Scientia Agropecuaria*, 12(1), 109-120. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.013>
- Mendivil, C., Nava, E., Armenta, A., Ruelas, R., & Félix, J. (2018). Elaboración de un abono orgánico tipo bocashi y su evaluación en la germinación y crecimiento del rábano. *Biotecnia*, 22(1), 17-23.
- Moreno, B. (2019). Elaboración de un abono (Bocashi) a partir de residuos orgánicos del Bioterio de la Facultad de Ciencias-ESPOCH. [Tesis]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Mosquera, B. (2010). Abonos orgánicos protegen el suelo y garantizan alimentación sana. *Fonag*, 25.
- Mota, I., Valdés, O., Quintas, G., & Pérez, A. (2019). Response to bocashi and the vermicompost of *Moringa oleifera* Lam. After pruning. 10(2), 289-299.
- Naeem, M., Ansari, A., y Gill, S. (2017). Essential plant nutrients: Uptake, use efficiency, and management. En *Essential Plant Nutrients: Uptake, Use Efficiency, and Management*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-58841-4>
- Olle, M. (2021). Review: Bokashi technology as a promising technology for crop production in Europe. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 96(2), 145-152. <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1810140>
- ONU. (1992). Declaración del río sobre el medio ambiente y el desarrollo (Número Declaración del río sobre el medio ambiente y el desarrollo, pp. 1-6). Organización de las Naciones Unidas. <http://www.upv.es/contenidos/CAMUNISO/info/U0506079.pdf>
- Ordoñez, I., & Cárdenas, J. (2018). Agricultura Orgánica: una herramienta para el desarrollo rural sostenible y la reducción de la pobreza. *Trinidad de Bubuey*, 14-16. <https://doi.org/10.2307/j.ctv8j5kr.6>
- Peralta, N., Bernardo, G., Wathier, M., & Silva Santos, R. (2019). Compost, bokashi y microorganismos eficientes: sus beneficios en cultivos sucesivos de brócolis. *Idesia (Arica)*, 37(2), 59-66. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292019000200059>

- Pikovskaya, R. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*, 17, 362-370.
- Ponte, C. (2008). Manejo integrado de residuos sólidos: Programa de reciclaje. Instituto Pedagógico de Caracas. *Revista de investigación*, 32(63), 173-200.
- Prisa, D. (2020). EM-Bokashi Addition to the Growing Media for the Quality Improvement of Kalanchoe Blossfeldiana. En *International Journal of Multidisciplinary Sciences and Advanced Technology* ISSN xxxx-xxx.
- Ramos, D., Terry, E., Soto, F., & Cabrera, J. (2014). Bocashi: abono orgánico elaborado a partir de residuos de la producción de plátanos en Bocas del Toro, Panamá. *Cultivos Tropicales*, 35(2), 90-97.
- Ramos, David, & Terry, E. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: importancia del bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos Tropicales*, 35(4), 52-59.
- Rodríguez, F. (2019). Huertas urbanas, bienestar y resiliencia: un aporte a la transición hacia la sustentabilidad en Chile. En *Huertas Familiares Y Comunitarias*.
- Romero, J., & Echeverría, A. (2016). Evaluación del proceso de biorremediación de suelos contaminados con pesticidas a través de biopilas con adición de dos inóculos diferentes en el sector Gatazo Zambrano catón Colta provincia de Chimborazo. Tesis. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo .
- Sardarmehni, M., Levis, J., & Barlaz, M. (2021). What Is the Best End Use for Compost Derived from the Organic Fraction of Municipal Solid Waste? *Environmental Science and Technology*, 55(1), 73-81. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04997>
- Sarmiento, G., Amézquita, M., & Mena, L. (2019). Uso de bocashi y microorganismos eficientes como alternativa ecológica en el cultivo de fresa en zonas áridas. *Scientia Agropecuaria*, 10(1), 55-61. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.01.06>
- Shintani, M., Leblanc, H., & Tabora, P. (2000). Bokashi (Abono Orgánico Fermentado). *Earth*, 25p.
- Siqueira, A., & Siqueira, M. (2013). Bokashi Adubo Orgânico Fermentado. *Programa Rio Rural*, 40(1983-5671), 16.
- Spanoghe, J., Grunert, O., Wambacq, E., Sakarika, M., Papini, G., Alloul, A., Spiller, M., Derycke, V., Stragier, L., Verstraete, H., Fauconnier, K., Verstraete, W., Haesaert, G., & Vlaeminck, S. (2020). Storage, fertilization

- and cost properties highlight the potential of dried microbial biomass as organic fertilizer. *Microbial Biotechnology*, 13(5), 1377-1389. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13554>
- Tanya, M., & Leiva, M. (2019). *Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas*. Centro Agrícola.
- Thomas, L., & Rahman, Z. (2020). Plant microbe symbiosis. En *Plant Microbe Symbiosis*. https://doi.org/10.1007/978-3-030-36248-5_7
- Torres, S., Verón, H., Contreras, L., & Isla, M. (2020). An overview of plant-autochthonous microorganisms and fermented vegetable foods. *Food Science and Human Wellness*, 9(2), 112-123. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.02.006>
- Umesha, S., Singh, P., & Singh, R. (2017). Microbial biotechnology and sustainable agriculture. En *Biotechnology for Sustainable Agriculture: Emerging Approaches and Strategies*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812160-3.00006-4>
- Valenzuela, F., Casillas, R., Villalpando, E., & Vargas, F. (2015). El Gen *rRNA* 16s en el estudio de comunidades microbianas marinas. *Ciencias Marinas*, 41(4), 297-313. <https://doi.org/10.7773/cm.v41i4.2492>
- Van der Ploeg, J. (2021). The political economy of agroecology. En *Journal of Peasant Studies*, 48(2), 274-297. <https://doi.org/10.1080/03066150.2020.1725489>
- Villagómez, D. (2014). *Elaboración de bocashi a partir de residuos del faenamiento de animales del camal de La Maná, provincia de Cotopaxi*. Tesis. Universidad Central del Ecuador.
- Willer, H., Trávníček, J., Meier, C., & Schlatter, B. (2021). The world of organic agriculture. En *The World of Organic Agriculture*.
- Zhou, Z., & Yao, H. (2020). Effects of composting different types of organic fertilizer on the microbial community structure and antibiotic resistance genes. *Microorganisms*, 8(2), 1-20. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020268>



UTEQ
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE
QUEVEDO



www.uteq.edu.ec

ISBN: 978-9942-626-02-8



Los abonos orgánicos permiten formar resistencia ante los factores bióticos y abióticos que tiendan afectar la producción de alimentos gracias a las interacciones microbianas y bacterianas que incorporan al suelo. Para ello es importante crear un ambiente favorable para el desarrollo de comunidades microbianas.

Con referencia a lo anterior se considera que la aplicación de enmiendas orgánicas en el suelo como el bocashi que con adición de microorganismos eficientes se efectúa una descomposición rápida haciendo parte de la solución a problemas en biodiversidad y nutrición edáfica que se evidenciara con la productividad de los cultivos. La mezcla de microorganismos locales y sustancias limpias combinadas benefician al suelo y cultivos, haciéndolos más resilientes y productivos.