

Lombricultura Pachamama S.A.

DEPENDENCIA DEL CONTENIDO PROTEICO EN EL ALIMENTO PARA EL DESARROLLO, CRECIMIENTO Y MULTIPLICACION DE EISENIA Foetida

Luis Velásquez B./ I. Ibáñez/ C. Herrera
Facultad de Química, Universidad Católica, Santiago, Chile

RESUMEN

El desarrollo de la utilización de Eisenia Foetida para la degradación de los excedente orgánicos biodegradables, tanto agrícolas como animales, ha motivado la exploración del uso de este invertebrado en la degradación de los excedentes forestales. En tal sentido, en este trabajo se estudia la utilización de los excedentes de la industrialización del Pinus Radiata: viruta y aserrín. Dichos excedentes fueron sometidos a procesos de deslignificación ácida (HCl, Ph 1) y básica (Li₂CO₃, Ph 12, solución saturada) y luego descompuestos aeróbicamente antes de ser colonizados por ejemplares adultos de Eisenia Foetida. Se controló peso corporal durante 90 días, observándose claro deterioro y nula reproducción. Al término del primer período, se agregó estiércol de bovino descompuesto, observándose una franca recuperación de peso atribuible al aporte proteico y lipídico del excedente animal que permitió además, la proliferación de microorganismos en el residuo forestal deslignificado.

INTRODUCCION

En Chile, según el Censo Agrícola de 1981, (Boletín ODEPA, Ministerio de Agricultura), existen cerca de 600.000 bovinos en confinamiento que producen en promedio alrededor de 41 kgs. estiércol/día. Esto conlleva a que anualmente se están produciendo en el país alrededor de 8.9 x 10⁶ toneladas de estiércol/día, del cual sólo un 20 % es aprovechado en diferentes posibilidades de utilización.

Por otra parte, la industria forestal chilena en 1984 produjo 160.000 m³ de aserrín y 166.000 m³ de viruta, ambos excedentes de la explotación del Pinus Radiata, con casi 1.002.252 hectáreas plantadas de esta especie introducida y con un volumen de 100 millones de m³ (Instituto Forestal, INFOR), aprovechándose solo el 16 % en términos de energía propia y venta al mercado interno para igual propósito.

El interés de este trabajo es buscar alternativas viables, a través de la Lombricultura, para la utilización de los excedentes orgánicos antes mencionados para lo cual se exploró un método de deslignificación de los residuos forestales, antes de someterlos al proceso de descomposición aeróbica tradicional.

En estos substratos se colocaron ejemplares de Eisenia Foetida, sexualmente adultos, una vez que alcanzaron las características físicas y químicas adecuadas (Kaplan et. al., 1980).

El propósito de emplear el proceso de deslignificación previo, obedece al interés de observar la evaluación de la descomposición de los residuos forestales, con la posibilidad real de que al ver franqueada la pared Lignínica, los microorganismos accedan a la fuente de celulosa y hemicelulosa (Christman y Oglesby, 1971); Grushnikov y Antropov, 1975) y de esta forma colonicen ampliamente el substrato y constituyen a su vez alimento para Eisenia Foetida, (Flack y Hartenstein, 1984), ya que esta última no puede degradar la Lignina por si sola (Neuhauser et. al., 1978).

MATERIALES y METODO

Invertebrado empleado

Se utilizó el anélido Eisenia Foetida, proporcionado por el Centro de Investigación y Desarrollo de Lombricultura.

Aserrín de Pinus Radiata

Se empleó aserrín de Pinus Radiata, seleccionado y limpio, desde una planta dimensionadora de Maderas.

Esta materia prima fue tamizada a malla 10 y 20.

Estiércol de bovino

Se utilizó estiércol de bovino fresco, recogido sobre piso de cemento en Planta Piloto de Ordeño Automático, el que se descompuso en una torta de 10 cm de altura, con una temperatura entre 20-25°, con una humedad de 75% constante, aireando la masa cada 48 hrs durante 30 días, período después del cual acusó Ph 7,2 y fue aceptada por ejemplares de prueba de Eisenia Foetida.

TRATAMIENTOS DESLIGNIFICANTES

Aserrines sin tratamientos; Control

Se tomó 50 grs. de aserrín, de ambos tamaños de partículas, malla 10 y 20, provenientes de partidas de 5 Kgs de materia prima en cada caso. Fueron colocadas en cajas de polipropileno de 16 x 12 x 18 (largo, ancho, alto), manteniéndolos con una humedad del 75 %, entre 20 – 24°C, durante 30 días y revolviendo la masa para oxigenación al cabo del día 7,14 y 21 del período de pretratamiento.

Aserrín con tratamiento Básico

Se tomó 50 gr. de aserrín, de cada tamaño de partícula y fueron tratados con carbonato de litio, Merck, p.a., a razón de 1,5 grs. de sal por cada 10 grs. de aserrín. Luego se adicionó 500 ml. de agua destilada. Se agitó vigorosamente la mezcla que acusó Ph 13 y que quedó saturada en Li_2CO_3 0,2M.

Se incubó por 24 hrs. a 27°C, luego enfriada a temperatura ambiente, lavándose con agua desionizada sobre tamiz apropiado, hasta que las aguas de lavado acusaron Ph neutro. La mezcla se ajustó a 75 % de humedad, siguiendo el mismo procedimiento descrito para el material de control.

Aserrín con tratamiento Básico-Acido

Se tomó 50 gr. de aserrín, de cada mallaje, y se les siguió similar tratamiento básico ya antes descrito. El material enfriado después de la incubación se aciduló hasta Ph 1.0, empleando HCl concentrado. La mezcla fue refluada a 100° C durante 1 hr, para posteriormente enfriar a temperatura ambiente y lavar tal como aconteció con las otras mezclas, para someterlas posteriormente a descomposición.

Colonización de las mezclas

Después de 30 días de descomposición de los aserrines, en éstos fueron colocados 5 ejemplares de *Eisenia Foetida*, con desarrollo clitelar entre escaso a incipiente, seleccionadas con pesos uniformes desde una población de 2.000 ejemplares.

Las cajas son mantenidas a 20° C que es una temperatura recomendada como buena para la reproducción de este anélido (Kaplan et. al.,1980).

Controles de Peso y Reproducción

Desde la colonización se realizaron controles de peso cada 30 días. En el día 90 de la experiencia al realizar el respectivo control se pesó el sustrato al que le fue agregado igual cantidad de estiércol de bovino descompuesto, homogeneizando la nueva mezcla, sobre la cual son puestas nuevamente los ejemplares de anélidos. Nuevamente se realizó control de peso cada 30 días, hasta el día 180.

Cada 15 días, desde el inicio de la experiencia se realizó control visual del desarrollo clitelar y del número de cápsulas puestas, como también de las cápsulas eclosionadas.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El Cuadro 1 muestra los resultados de los análisis efectuado a los tres aserrines originales, practicados en triplicado, sobre el tamaño de partícula malla 20.

Cuadro 1. Análisis componentes aserrín de *Pinus Radiata* (malla 20)

	Sin Tratamiento	Tratamiento Básico	Tratamiento Básico-Acido
Humedad (1)	12,67 + 1,02	7,97 + 1,31	8.25 + 1.39
Celulosa (2)	48,69 + 0,91	52,34 + 1,73	57.96 + 0.83
Hemicelulosa (3)	17.01 + 0.33	18.99 + 1.81	19.09 + 1.09
Lignina (4)	24,78 + 0,38	12.39 + 1.32	3.06 + 0.76
Extraíbles (5)	8.75 + 1.05	14.87 + 2.31	19.52 + 2.01
Proteínas (6)	0.82 + 0.08	0.00	0.00
Cenizas (7)	0.74 + 0.12	0.51 + 0.06	0.37 + 0.04

(P< 0,05)

1. A 110° C
2. Hidrólisis ácida
3. Hidrólisis ácida
4. Por diferencia
5. Reflujo mezcla Etanol – Benceno
6. Micro Kjeldhal N x 6,25
7. Calcinación 550° C

Se observa el escaso contenido de proteínas, el que alcanza a un 0.82% b.s. en este sustrato, cantidad que concuerda con valores reportados para similares materiales (Dorée, 1950). Para los aserrines tratados químicamente no se detectó niveles proteicos accesibles por el método empleado, lo que viene a comprobar la exhaustiva hidrólisis básica y luego básica-ácida del escaso nivel proteico original.

Con respecto al resultado en la composición acusado por el aserrín original, éste muestra plena concordancia con valores reportados en trabajos anteriores (Guha y Tichener, 1981). Se observa que la celulosa está presente en casi un 50 % b.s.

El aserrín sometido a tratamiento básico con Li_2CO_3 (Ph 13,2) acusó una deslignificación cercana al 50 %, motivando el alza del contenido de los otros componentes al estar referido a valores de composición relativa.

Al respecto, cabe señalar que la humedad y el contenido de sales minerales (cenizas) presentan valores menores con respecto a los iniciales y es debido al hecho de que la hidrólisis básica de la pared lignínica ha dejado acceso a una mayor superficie celular susceptible de deshidratarse, lo que sucede en mayor proporción al encontrarse con conformaciones celulares distintas, como son las ricas en celulosa y hemicelulosa. Este mayor alcance en la deshidratación conlleva a una más alta pérdida de sales minerales involucradas en dichas estructuras celulares.

El tratamiento combinado, básico-ácido es más drástico en términos de efecto deslignificante, ya que se logra extraer casi un 57% de la lignina original, observándose situación similar para el contenido de humedad y cenizas al producido en el tratamiento básico solo.

Shambe y Kennedy (1984) consiguieron un nivel de deslignificación del mismo orden al tratar paja de trigo con LiCl en HCl 1M, a 27° C por 24 hrs. con lo cual se ratifica que el agente deslignificante es el LiCl que en nuestro caso es generado in situ.

La Figura 1 muestra la evolución de los pesos corporales promedio de cada grupo de lombrices en los diferentes substratos empleados. Todos los grupos manifestaron en los primeros 90 días una creciente pérdida de peso corporal, lo que derivó en una escasa actividad física, la que se hizo manifiesta al termino del tramo señalado. Este hecho se vio confirmado por la nula reproducción ya que no se observó ninguna cápsula en los primeros tres meses.

El Cuadro 2 muestra las relaciones de los respectivos pesos corporales y su evolución en el tiempo, lo que ratifica la pérdida sostenida que acusaron los grupos desde el inicio, al día 90. En los primeros 30 días todos los grupos pierden entre un 20 y 30 % de peso corporal, mientras que solo el grupo E (tratamiento básico solamente) acusó la menor pérdida de peso

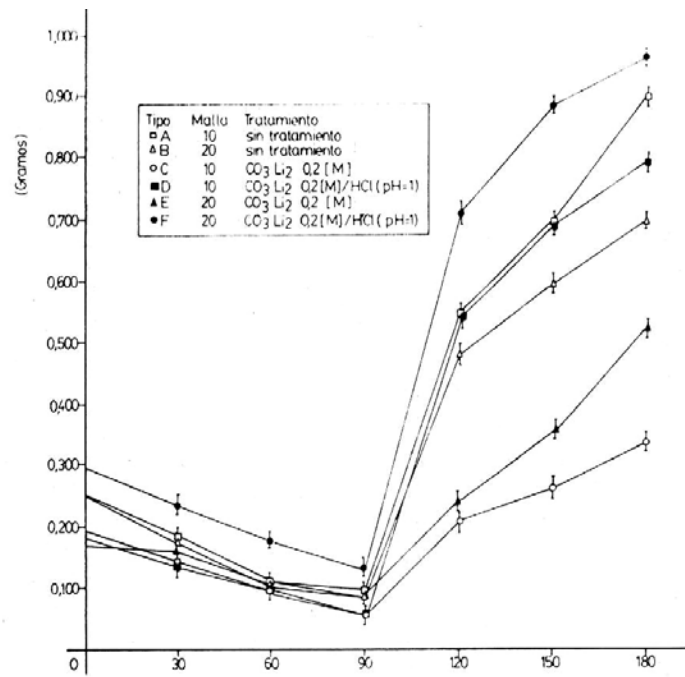
corporal para el periodo, y que alcanzo a casi un 6 %. Para el día 60, las perdidas de peso están entre 40 y 59 %, lo que no deja de ser sorprendente; la capacidad biológica de estos invertebrados. Este hecho nos revela que los microorganismos que esperamos que colonizaran los substratos después de la descomposición previa, no concurren, tanto para el grupo control como los grupos experimentales, toda vez que esa debería ser la principal fuente proteica de los anélidos.

La estructura química de los substratos vegetales, el periodo y condiciones de descomposición, no fueron las optimas para hacer proliferar la masa microbiana, por lo que estos elementos, por si solos, no constituyen alimento para Eisenia Foetida, bajo las condiciones tratadas.

Lo anterior se ve reforzado más aún, al observar que el día 90 la pérdida de peso corporal está entre un 51 y 75 %, siendo los más afectados los grupos C y D, mientras que los E y F presentan las menores pérdidas.

Estos invertebrados son capaces de resistir pérdidas que superan el 50 % de su peso, disminuyendo drásticamente sus actividades fisiológicas en general.

Figura 1. Crecimiento de Eisenia Foetida en aserrín de Pinus Radiata, tratado y sin tratar, solo y con estiércol bovino (promedio de 5 ejemplares con + D.E.).



Cuadro 2. Desarrollo de Eisenia Foetida en diferentes substratos

Tipo	Peso inicial en grs.	Pérdida % acumulada de peso *			Ganancia % acumulada de peso *			Peso final en grs.
		30 días (-)	60 días (-)	90 días (-)	120 días (+)	150 días (+)	180 días (+)	
A	0.253+0.008	26.48+3.52	56.52+2.98	62.05+5.18	215.02+3.95	273.52+4.74	355.73+4.35	0.900+0.012
B	0.248+0.006	29.84+2.02	58.87+2.02	67.74+4.84	192.74+6.05	239.52+6.45	280.65+4.43	0.696+0.014
C	0.198+0.007	26.26+3.53	53.54+3.54	74.75+2.53	106.06+6.06	131.31+6.02	169.70+7.59	0.336+0.019
D	0.181+0.008	23.76+4.42	48.07+2.77	70.16+2.20	298.34+8.35	381.22+6.62	436.46+8.14	0.790+0.017
E	0.170+0.008	5.88+1.83	40.33+3.97	51.18+4.71	142.35+4.12	207.06+5.88	307.06+8.23	0.522+0.014
F	0.297+0.006	20.54+4.71	40.74+3.70	56.23+5.39	238.38+6.01	296.96+4.38	323.91+4.04	0.962+0.012

* La pérdida y ganancia de peso acumulada están referidas a cada peso promedio inicial de los anélidos. Los grupos constaban de 5 animales cada uno. El día 90 del estudio se incorporó un 50% en peso, de estiércol de bovino previamente descompuesto.

A partir de la agregación de estiércol bovino, previamente descompuesto aeróbicamente, cuya composición química proximal se muestra en el cuadro 3, observamos una franca y creciente ganancia de peso corporal de todos los grupos, que va desde un 106 % (grupo C) hasta un 300 % (grupo D). Las cifras de ganancia de peso están referidas al peso inicial, por lo que habrá en términos absolutos, que sumarle la pérdida acusada hasta el día 90 ya que recuperan dicha merma. Al final del período, las mayores recuperaciones de peso son mostradas por los grupos D, A y E, situándose en una posición intermedia el grupo E, la menor recuperación la mostraron los grupos B y C.

Los mejores pesos finales están cercanos a los 0,86 y 0,90 grs. peso promedio del anélido, que a la edad alcanzada ya a la fecha tenían entre 7 y 8 meses de edad.

Son los ejemplares del grupo F y D, justamente los que provienen del sustrato deslignificado bajo tratamiento combinado básico-ácido, los que alcanzaron el más rápido desarrollo clitelar y que se manifestó en la más alta producción de cápsulas al término del período del estudio. En cambio, son los grupos C y E (tratamiento básico solamente), los que presentaron retraso en el desarrollo clitelar, el cual alcanzó a 2/3 de ambas poblaciones.

Este se vio reflejado en el menor número de cápsulas al término del período.

Este hecho vendría a representarnos que el desarrollo clitelar estaría condicionado por las características alimenticias, en términos nutricionales para las lombrices, del medio y no tanto por la edad de los sujetos; pero que al cambiar la dieta hacia niveles favorables de proteínas y lípidos, estos anélidos se recuperan con una rapidez asombrosa demostrando una capacidad de síntesis metabólica digna de nuevos estudios.

El número de cápsulas fue chequeado cada 15 días y con prolija revisión de cada sustrato. Cada vez que se encontró una cápsula, ésta fue colocada en un vértice de cada caja, para no confundirla con las nuevas posturas, de tal forma que el número total de cápsulas puestas en el período fue el máximo para los grupos F (32) y D (23), superando al control que acusó los siguientes, grupo A (15) y B (20). En el extremo de menor producción, vemos el grupo C (5) y E (7).

Cuadro 3. Composición química proximal estiércol bovino (promedio de tres análisis)

Humedad % (1)	55.87 +- 2.07
Proteínas % b.s. (2)	18.11 +- 0.98
Lípidos % b.s. (3)	1.76 +- 0.14
Fibra cruda % b.s.	24.83 +- 1.17
E.N.N % b.s. (4)	37.22 +- 1.83
Cenizas % b.s.	18.08 +- 1.07
Energía Kcal./gr. (5)	4.94 +- 0.68

- (1) 110° C hasta p = cte.
(2) N x 6.25
(3) Extracto etéreo
(4) Extractivos no nitrogenados, por diferencia
(5) En bomba calorimétrica.

La evolución de la postura de cápsulas, por grupos y a través del periodo del estudio se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Control de reproducción

	ayo		Periodo del estudio (días)													Tot. cápsulas	
			0	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180		
A	Malla 10	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	4	4	3	15
B	Malla 20	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3	6	9	20
C	Malla 10	CO ₃ Li ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	2	5
D	Malla 10	CO ₃ Li ₂ /HCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	18	6	5	23
E	Malla 20	CO ₃ Li ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	3	7
F	Malla 20	CO ₃ Li ₂ /HCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	7	10	12	32

Podemos concluir que la agregación de estiércol de bovino previamente descompuesto, aportó nutrientes básicos para los anélidos, principalmente proteínas y lípidos, francamente necesarios para su desarrollo, crecimiento y reproducción. Por otra parte, este substrato por sus características, aporta una rica y abundante población de microorganismos, los que son capaces de colonizar el substrato celulósico e iniciar probablemente la degradación de la celulosa y hemicelulosa, preferentemente en aquellas muestras drásticas deslignificadas, como son los grupos D y F, proveyendo nuevos nutrientes a las lombrices; biomasa microbiana y aportadores de calorías (celulosa y hemicelulosa).

El proceso deslignificante es favorable para el pretratamiento de los residuos silviagrícolas, ya que nos ofrece dos beneficios: el primero es que podemos extraer grandes cantidades de lignina y colorantes tipo taninos, susceptibles de recuperar del proceso y que tienen amplio campo de utilización industrial, segundo podemos acceder a un elemento orgánico capaz de ser biodegradado por masas microbianas presentes en desechos animales, accediendo a mezclas susceptibles de descomponer, mineralizar y transformar por lombrices del tipo Eisenia Foetida, permitiendo de esta forma acceder a nuevas alternativas de uso para estos excedentes agrícolas y forestales.

Bibliografía

CHRISTMAN, R.F.; OGLESBY, R.T. 1971. Microbiological degradation and formation of humus. In Lignins Occurrence, Formation, Structure and Reactions.

DOREE, CH. 1950. The Methods of Cellulose Chemistry

FLACK, F.M.; Hartenstein, R. Growth of the Earthworm *Eisenia Foetida* on micro-organism and cellulose.

GRUSHNIKOV, O.F.; ANTROPOVA. O.N. 1975. Microbiological degradation of lignin.