

GENERACIÓN 1992 - 1997

CÓDIGO 089122112

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS  
BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



**“ EL POTENCIAL BACTERICIDA DE LA LOMBRIZ  
ROJA CALIFORNIANA *Eisenia andrei* ”**

**TESIS PROFESIONAL**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PRESENTA**

**ROCÍO AYETZA AGUILERA CASTILLO**

**LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO DICIEMBRE 2002**

189 759 / 022864  
B755  
20



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

COMITÉ DE TITULACIÓN

**C. ROCÍO AYETZA AGUILERA CASTILLO  
PRESENTE.**

Manifetamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **TESIS E INFORMES** opción **Tesis** con el título "**EL POTENCIAL BACTERICIDA DE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA *Eisenia andrei***", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado/a como Director de dicho trabajo el/la **BIOL. JUANA AMÉRICA LOZA LLAMAS** y como Asesor el/la **BIOL. ALEJANDRO OROZCO JÁUREGUI**.

**A T E N T A M E N T E  
"PIENSA Y TRABAJA"**

**"2002, Año Constanco Hernández Alvirde"**  
Las Agujas, Zapopan, Jal., 29 de noviembre del 2002

  
**DRA. MÓNICA ENZABETH ROJAS LÓPEZ**  
**PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**  
COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

  
**M.C. LETICIA HERNÁNDEZ LÓPEZ**  
**SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

c.c.p. BIOL. JUANA AMÉRICA LOZA LLAMAS.-Director del Trabajo.  
c.c.p. BIOL. ALEJANDRO OROZCO JÁUREGUI.-Asesor del Trabajo.  
c.c.p. Expediente del alumno

MERL/LHL/mam

C. DRA. MÓNICA ELIZABETH RIOJAS LÓPEZ.  
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN  
DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES  
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.  
P R E S E N T E.

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Titulación MODALIDAD TESIS.

\_\_\_\_\_ que realizó el (la) pasante:  
ROCIO AYETZA AGUILERA CASTILLO código 089122112 con el  
título: EL POTENCIAL BACTERICIDA DE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA  
Eisenia andrei.

consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y, en su caso, programación de fecha de examen respectivo.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
Las Agujas, Zapopan, Jal., a 3 DICIEMBRE 2002



EL DIRECTOR DEL TRABAJO

COORDINADOR DE LA SESIÓN  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

MC. JUANA AMERICA LOZA LLAMAS  
NOMBRE Y FIRMA

LIC. BIO. ALEJANDRO BROZCO JAUREGUI.  
NOMBRE Y FIRMA

SINODALES.

1.- ING. SERGIO HONORIO CONFERRAS RODRIGUEZ.

NOMBRE COMPLETO

FIRMA

2.- Q.F.B. ANGEL PEREZ ZAMORA.

NOMBRE COMPLETO

FIRMA

3.- MC. LUZ ELENA CLAUDIO GARCIA.

NOMBRE COMPLETO

FIRMA

4.- Q.F.B. MARGARITA BONILLA MORENO.

NOMBRE COMPLETO

FIRMA

C. M.C. ARTURO OROZCO BAROCIO  
PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION  
DE LA DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES  
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.  
P R E S E N T E:

Por este conducto me permito poner a su consideración mi trabajo de titulación en la modalidad de TESIS titulado:

EL POTENCIAL BACTERICIDA DE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA

Eisenia andrei.

el cual se anexa, para que sea turnado al Comité de Titulación de esta dependencia para su revisión y en su caso aprobación.

Asimismo pongo a su consideración a:

BIOL. JUANA AMERICA LOZA LLAMAS.

como Director de Tesis. Así mismo, como asesor (No indispensable, opcional)a:

BIOL. ALEJANDRO OROZCO, ASESOR EXTERNO.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para reiterarle mi consideración más distinguida.

A T E N T A M E N T E.

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 8 DE JULIO DE 1998.

Vo. Bo.

EL DIRECTOR  
NOMBRE Y FIRMA

BIOL. JUANA AMERICA LOZA LLAMAS.

EL ALUMNO  
NOMBRE Y FIRMA

C. ROCÍO A. AGUILERA CASTILLO.

BIOL. ALEJANDRO OROZCO JAUREGUI.  
EL ASESOR.

EXCLUSIVO COMISION DE TESIS.

COMITE DE  
TITULACION



RECIBIDO  
4-07/98

COMITE DE  
TITULACION



SINODALES

1. Ing. Sergio H. Contreras Rodríguez
  2. Q.F.B. Angel Pérez Zamora
  3. Lic. Elena Claudia García
- SUPL. Margareta González Moreno

APROBADO 17/Julio/98

RECIBIDO  
30/Julio/98

03-Dic-02

## DEDICATORIAS.

Esta tesis la dedico a mi padre por su amor desmedido, su apoyo y comprensión.

A mi esposo y a Lupita Duran Vega por sus palabras de aliento.

A mis amigos, Cuquis, Carlos, Alejandra, Jorge, por su amistad desinteresada.

A mi hermana María Elena Galindo Castillo, por su inmenso cariño y su apoyo cuando yo mas necesitaba de ella.

A mi familia por haberme trasmitido sus valores, a mi abuelita, a mi mamá y hermanos.  
Gracias.

A mi hijo por su comprensión para la conclusión de ésta.

## AGRADECIMIENTOS.

Agradezco al Centro Estatal de Laboratorios de la Secretaria de Salud Jalisco, en particular al Departamento de Control Microbiológico, por su apoyo para la realización de mi tesis.

Agradezco a la Universidad de Guadalajara por mi formación educacional.

Agradezco a la Planta Piloto de Lombricultura por su participación y apoyo.

Agradezco a mi directora de tesis América Loza Llamas y a mi asesor Alejandro Orozco, por su tiempo en la realización de esta tesis.

Agradezco a los maestros Ángel Pérez, Luz Elena Claudio García, Martha Reines y Sergio Contreras, por sus comentarios.

Agradezco a todos los maestros que desinteresadamente me transmitieron sus conocimientos.

Agradezco al personal del laboratorio en el que realice mi tesis por su apoyo para la realización de la misma.

Agradezco en especial al maestro que me ayudo con los datos estadísticos.

A todos los que se vieron involucrados en la realización de mi tesis..... Gracias.

## Contenido.

Resumen.....	
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	2
III. HIPÓTESIS.....	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
4.1 Importancia de las Lombrices de Tierra.....	4
4.2 Clasificación Ecológica de las Lombrices.....	4
4.2.1 Epígeas.....	4
4.2.2 Anécicas.....	5
4.2.3 Endógeas.....	5
4.3 La Vermicultura.....	6
4.4 La Lombriz de Tierra.....	7
4.4.1 Taxonomía.....	7
4.4.1.1 Familias, generos y especies.....	7
4.4.1.2 Lumbricidae.....	8
4.4.2 Morfología y Fisiología.....	8
4.4.2.1 Descripción general.....	8
4.4.2.2 Reproducción.....	10
4.4.2.3 Tracto Digestivo.....	11
4.4.2.4 Sistema Circulatorio.....	11
4.4.2.5 Respiración.....	11
4.4.2.6 Nutrición.....	12
4.4.3 Mecanismos de Adaptación.....	12
4.5 La Lombriz Roja Californiana ( <i>Eisenia andrei</i> ).....	13
4.5.1 Características de Crecimiento.....	13
4.5.2 Sistema Digestivo.....	13
4.5.3 Microflora Asociada.....	14
4.6 Bacterias Patógenas.....	14
4.6.1 <i>Eschericia coli</i> .....	15
4.6.1.1 Características de Cultivo.....	15
4.6.1.2 Enfermedades extraintestinales.....	15
4.6.1.3 Reacciones de Identificación.....	17
4.6.2 <i>Salmonella</i> .....	17
4.6.2.1 Enfermedades intestinales.....	17
4.6.3 <i>Shigella</i> .....	19
4.6.3.1 Enfermedades intestinales.....	20

V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
5.1 Selección del sustrato y alimentos adecuados.....	22
5.1.1 Materiales utilizados.....	22
5.1.2 Preparación de los materiales.....	23
5.1.3 Inoculación y cultivo de la lombriz.....	24
5.2 Preparación y enriquecimiento de los cultivos bacterianos.....	26
5.3 Determinación del potencial bactericida de la lombriz.....	27
5.3.1 Diseño experimental.....	27
5.3.2 Tratamiento previo de las lombrices.....	27
5.3.3 Siembra de las lombrices e inoculación de bacterias.....	28
5.3.4 Determinación de la viabilidad de la bacteria en el sustrato.....	29
5.3.5 Determinación de la presencia de las bacterias patógenas en el tracto digestivo de la lombriz.....	30
5.3.6 Detección de las bacterias patógenas en las excretas (casting).....	31
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
6.1 Resultados de la selección del sustrato y alimento adecuado.....	34
6.1.1 Materiales utilizados.....	34
6.1.2 Resultados de la preparación de los materiales.....	34
6.1.3 Resultados de la inoculación y cultivo de la lombriz.....	34
6.2 Resultados de la preparación y enriquecimiento de los cultivos bacterianos.....	34
6.3 Resultados de la determinación del potencial bactericida de la lombriz.....	34
6.3.1 Resultados del diseño experimental.....	34
6.3.2 Resultados del tratamiento previo a las lombrices.....	34
6.3.3 Resultados de la siembra de las lombrices e inoculación de bacterias.....	34
6.3.4 Resultados de la viabilidad de la bacteria en los sustratos.....	35
6.3.5 Resultados de la presencia de las bacterias patógenas en el tracto digestivo de la lombriz.....	37
6.3.5.1 Resultados con la bacteria <i>E. coli</i> .....	38
6.3.5.2 Resultados obtenidos de la bacteria <i>Salmonella enteritidis</i> .....	40
6.3.5.3 Resultados obtenidos de la bacteria <i>Shigella flexneri</i> .....	42
6.3.6 Resultados de la detección de las bacterias patógenas en la excretas.....	46
VII. CONCLUSIONES.....	48
VII. LITERATURA CITADA.....	49



## Índice de figuras.

Figura 01: Muestra los sustratos y/o alimentos que se ensayaron con las lombrices.....	23
Figura 02: Muestra las ollas de presión en donde se esterilizo el material.....	24
Figura 03: Autoclave que se utilizo para esterilizar el material.....	24
Figura 04: El sustrato/alimento que se utilizaron en el experimento.....	25
Figura 05: Tubos de ensayo con caldo enriquecido y sin enriquecer.....	26
Figura 06: Muestra las lombrices en la lechuga.....	28
Figura 07: Muestra el sustrato, alimento y las lombrices en estadio adulto.....	28
Figura 08: Muestra los tubos de ensayo con el caldo de soya enriquecido y sin enriquecer.....	29
Figura 09: Se disecciona la lombriz para tomar las porciones anterior, medio y posterior.....	30
Figura 10: Se toma la porción del tracto y se coloca en el tubo con caldo soya.....	31
Figura 11: Se toman las excretas, incubándose en caldo soya.....	32
Figura 12.- Se muestra el crecimiento transcurrido 24 horas, de las colonias de E. coli en el medio de cultivo EMB, sobre sale el color metálico característico de esta bacteria se compara con el medio SS y un medio estéril.....	35
Figura 13.- Muestra el crecimiento de las colonias de la bacteria Salmonella transcurrido 24 horas, colonias plano convexas, de 1 a 2 mm, traslúcidas.....	35
Figura 14.- Se observa el crecimiento de las colonias de Shigela, son gram negativas, traslúcidas y plano convexa.....	36
Figura 15.- Resultados de las prueba bioquímica de la bacteria, en la que se observa que el citrato es negativo (fuente exclusiva de carbono pero no para E. coli), producción de indol (trítófano) positivo, rojo de metilo (producción de ácido) positivo y Voges Proskauer (acetoina) negativo), reacciones que identifican a E. coli....	36
Figura 16.- Pruebas bioquímicas en la que se observa MIO (movilidad, indol, ornitina) turbidez, positivo para ornitina ya que no cambio su color, LIA (lisina) positivo ya que no cambio su color con H <sub>2</sub> S, Kligler lactosa negativo, glucosa negativo y H <sub>2</sub> S positivo. Resultados con la bacteria Salmonella Se compara con un medio estéril.....	37
Figura 17.- Prueba bioquímica con la bacteria Shigela, MIO (movilidad, ornitina) para ornitina es negativo, LIA (lisina) negativo, Kligler lactosa positivo. Comparación con un medio de cultivo estéril.....	37
Figura 18.- Grafica de los resultados de la incubación de 4 horas del tracto digestivo.....	39
Figura 19.- Grafica de los resultados de la incubación de 24 horas del tracto digestivo.....	40
Figura 20.- Grafica de los resultados obtenidos en la incubación de 4 horas del tracto.....	41
Figura 21.- Grafica que muestra los porcentajes de la incubación de 24 horas del tracto.....	42
Figura 22.- Grafica que muestra los porcentajes de la incubación de 4 horas del tracto.....	43
Figura 23.- Grafica que muestra los porcentajes de la incubación de 24 horas del tracto.....	44

Índice de cuadros.

Cuadro 01. Muestra los sustratos y/o alimentos que se ensayaron con la lombriz, para obtener resultados positivos en la sobrevivencia de la lombriz.....	22
Cuadro 02. Tratamientos.....	27
Cuadro 03. Número de muestras positivas a la presencia de <i>E. coli</i> en el tracto digestivo de la lombriz.....	38
Cuadro 04. Número de muestras positivas a la presencia de <i>Salmonella enteritidis</i> en el tracto digestivo de la lombriz.....	40
Cuadro 05. Número de muestras positivas a la presencia de <i>Shigella flexneri</i> en el tracto digestivo de la lombriz.....	42
Cuadro 06. Número de muestras positivas a la presencia de bacterias patógenas en el tracto digestivo de la lombriz.....	45
Cuadro 7. Presencia de bacterias patógenas en las excretas.....	46

## RESUMEN.

La acumulación de diversos desechos orgánicos constituye importantes focos de transmisión de enfermedades, residuos que pueden ser tratados con el vermicompostaje. Con el objeto de eliminar residuos contaminantes y de producir abono orgánico, el presente estudio tiene la intención de determinar las condiciones adecuadas para eliminar microorganismo patógenos en materiales orgánicos mediante el proceso de lombricultura, a sí como determinar la capacidad bactericida de la lombriz roja californiana sobre Escherichia coli, Salmonella enteritidis, y Shigella flexneri, ver en que lugar del tracto digestivo de la lombriz tiene lugar la eliminación de las bacteria y determinar la presencia de bacterias patógenas residuales en la excretas de la lombriz.

Se documenta sobre la trascendencia de la lombriz de tierra en la vida cotidiana del hombre y como con su ayuda podemos obtener muchos beneficios desde eliminación de materia orgánica o mejor dicho basura orgánica, hasta la obtención de un abono orgánico que contiene mas nitrógeno, fósforo, etc. que la tierra, obteniendo además de la misma lombriz proteína misma que puede ser utilizada para alimentación de animales e incluso para consumo humano. En el presente estudio se encontrará información referente a la clasificación ecológica, taxonomía, morfología y fisiología de la lombriz de tierra asimismo información de las bacterias de interés.

Los materiales y métodos se fueron adaptando de acuerdo a las necesidades de la tesis. Se estudió la capacidad bactericida de la lombriz roja californiana (Eisenia andrei) cultivada en una mezcla de tejido de palma (Phoenix dactylifera) y excretas de conejo, sobre Escherichia coli, Salmonella enteritidis, y Shigella flexneri durante un periodo de 10 días. Las determinaciones bacteriológicas fueron hechas cada tercer día en tres porciones del tracto digestivo de la lombriz; en la última fase del estudio se determinó la presencia de las bacterias en las excretas de la lombriz. Se alterno con la comprobación de la presencia de la bacteria en la mezcla utilizada.

Los resultados muestran que la viabilidad de las bacterias en el sustrato fue positiva, es decir, siempre estuvieron presentes las bacterias.

Los resultados de las bacterias recuperadas de las porciones del tracto digestivo son muy variados. La bacteria Escherichia coli se recuperó de todas las porciones mas no en la misma proporción, en la porción media se recuperó en menor cantidad, Salmonella enteritidis en las porciones en donde se recupero menos esta bacteria fue en la porción media y posterior, Shigella flexneri se recuperó de las porciones media y posterior.

Los resultados en excretas, muestran que se recuperaron las bacterias Escherichia coli y Salmonella enteritidis pero no así la bacteria Shigella flexneri no se recupero de las excretas.

La concentración de bacterias que utilice fue de 900 millones por mililitro, esto para asegurar la presencia de las bacterias de interés en el sustrato.

Ya que la presente tesis no fue cuantitativa sino cualitativa, no puedo asegurar que se eliminan las bacterias que se utilizaron al 100 %, pero sin embargo si disminuyo la presencia de la bacteria en las diferentes porciones del tracto digestivo, se sugiere que a futuro se haga un estudio pero cuantitativo con una concentración menor de dichas bacterias.



## I.- INTRODUCCIÓN

Se sabe que con el progreso, el aumento poblacional, han aumentado los desechos orgánicos, con ello contaminación de agua, suelo y aire. Se puede utilizar el método de incineración, relleno sanitario, etc. para estos desechos pero aun así contaminaríamos, la vermicultura es una técnica que se utiliza en otros países (España, E.U., Francia) con resultados satisfactorios.

La acumulación de diversos desechos orgánicos constituye importantes focos de transmisión de enfermedades, tanto por presentar las condiciones adecuadas para la reproducción de microorganismos patógenos, como por favorecer la proliferación de fauna nociva que se constituye en vector de tales microorganismos. Entre estos microorganismos es posible encontrar bacterias enteras patógenas, sobre todo cuando los desechos provienen de o están mezclados con residuos municipales o con aguas residuales municipales (Elvira C, y col. 1995).

Tales bacterias como las del género Salmonella, Shigella, son patógenas para el hombre, causando incluso la muerte. E. coli, es una bacteria oportunista, bacteria predominante en el intestino grueso que puede causar existiendo las condiciones enfermedades intestinales.

Por otra parte, se sabe que en el tracto digestivo de las lombrices de tierra pueden ser destruidas varias especies de bacterias patógenas, y que la acumulación de enteras bacterias, Salmonella spp. y Shigella spp. presentes en los residuales disminuyen al ser tratados mediante el proceso de vermicompostaje (Eastman y col. 2001).

El aprovechamiento de la capacidad detritívora de la lombriz de tierra mediante un proceso biotecnológico denominado vermicultura, iniciado hace aproximadamente 60 años, hace posible descomponer diversos residuos orgánicos cuya acumulación representa severos problemas ambientales debido a la contaminación que ocasionan, así como por constituir focos de transmisión de enfermedades. Adicionalmente, las excretas de las lombrices contienen varias especies de microorganismos benéficos, incorporados al pasar la materia orgánica a través del tracto digestivo (Edwards y Lofty, 1977).

El resultado del vermicomposteo o vermicultura es la obtención de excretas o casting, mismos que son estables, ricos en poblaciones microbianas y de granulometría fina (Elvira y col. 1995). Se obtiene además proteína de alta calidad que puede ser utilizada para alimento de peces, aves, e incluso como alimento humano (Bellapart. 1988).

Dado el reciente auge de la lombricultura en el estado de Jalisco, particularmente con objeto de eliminar residuos contaminantes y de producir abono orgánico, con el presente estudio se pretende determinar la capacidad de la lombriz roja californiana (Eisenia andrei) para destruir a tres bacterias patógenas (Escherichia coli, Salmonella spp. y Shigella spp.) en condiciones de laboratorio.

## II.- OBJETIVOS.

### 2.1 Objetivo general:

Determinar las condiciones adecuadas para eliminar microorganismos patógenos en materiales orgánicos mediante el proceso de lombricultura.

### 2.2 Objetivos específicos:

- 1) Determinar la capacidad bactericida de la lombriz roja californiana (*Eisenia andrei*) sobre Escherichia coli, Salmonella enteritidis, y Shigella flexneri.
- 2) Determinar en qué lugar del tracto digestivo de la lombriz tiene lugar la eliminación de las bacterias.
- 3) Determinar la presencia de bacterias patógenas residuales en las excretas de la lombriz.

### III.- HIPÓTESIS

La lombriz roja californiana (*E. andrei*) es capaz de destruir las bacterias patógenas presentes en los residuos orgánicos cuando éstos pasan a través de su tracto digestivo.

## IV.- REVISIÓN DE LA LITERATURA.

### 4.1 Importancia de las Lombrices de Tierra

El extraordinario interés que suscita el tema de las lombrices se debe a que estos invertebrados son formidables devoradores de excrementos animales y de materia orgánica en descomposición (Compagnoni, 1985) y, contra la creencia general, no se comen las raíces de las plantas vivas, sino que consumen materia orgánica en estado de descomposición. (Bellapart, 1988).

Las lombrices de tierra excavan el suelo a varios metros de profundidad, . A lo largo de toda su vida toman incesantemente tierra y desechos orgánicos y excretan finos y fructíferos cúmulos de humus. Todo su cuerpo es un intestino donde se mezclan los componentes orgánicos y los minerales del suelo con los jugos gástricos hasta producir agregados estables. Así se origina el conocido complejo arcillo-húmico (Kreuter, 1994).

Las excretas de las lombrices de tierra contienen altas concentraciones de sustancias nutritivas, cuyo análisis revela que contienen 5 veces más nitrógeno, 7 veces más fósforo, 11 veces más potasa, 2 veces más magnesio y 4 veces mas calcio que la tierra cercana. Estas cifras son variables según el tipo de suelo y su proporción de nutrientes, pero siempre son sensiblemente altas (Op. Cit.).

UVT y Morris (1994) destacan la enorme importancia de las lombrices para la recuperación de suelos, al señalar que la adición de lombrices en áreas donde estaban ausentes ayudó a mejorar ciertas características del suelo, tales como la densidad, la permeabilidad, el rango de infiltración y el contenido de materia orgánica. Por ello, sugieren que la inoculación de lombrices puede ser considerada como un paso hacia la completa rehabilitación de los suelos degradados.

En el mismo sentido, Elvira, C. y col. (1995). Indica la importancia de las lombrices en la rehabilitación de los suelos a través de una alta deposición orgánica, mientras que Goicochea y otros (1996) afirman que la presencia de las lombrices acelera la mineralización de la materia orgánica e incrementa la velocidad de humidificación.

### 4.2 Clasificación Ecológica de las Lombrices:

Fregoso (1989) menciona la existencia de varias categorías ecológicas de lombrices de tierra, cada una con actividad fundamentalmente distinta y cuya representatividad varía de manera notable en función de la latitud.

#### 4.2.1 Epigeas.

Las lombrices epigeas son crean sistema de madrigueras en el suelo, por lo que sus efectos son limitados primariamente a la superficie (pocos centímetros del suelo) y no tienen efectos sobre la estructura. Su papel es muy similar al de los macro artrópodos, siendo muy eficientes en la descomposición y fragmentación de los desechos que se encuentran en la superficie y transformándolos en materia orgánica estabilizada (Lavelle, y col. 1989). Estas lombrices modifican el



estrato físico y químico, haciendo más favorable la actividad microbiana y la posterior descomposición de la materia orgánica (Fregoso, y col. 1997).

Las poblaciones fúngicas pueden ser controladas en cierto rango por la preferencia de las actividades alimenticias de estas lombrices. Algunos hongos pueden también ser dispersados, y esto puede ser particularmente benéfico en el caso de las micorrizas vesicular-arbuscular, que son hábiles en la infección de una amplia área de raíces. Se han realizado pocos estudios sobre el rol de las especies nativas en la fertilidad del suelo y en la producción de plantas.(Ob. Cit.).

#### 4.2.2 Anécicas.

Las lombrices Anécicas se alimentan de la materia orgánica de la superficie del suelo y la mezclan con el suelo de horizontes inferiores. Son ligeramente pigmentadas en la región anterior y de gran tamaño. De perfil demográfico tipo K con lenta fecundidad balanceada por una alta expectativa de vida. Su digestión es directa o indirecta.(Lavelle, y col, 1989).

Las anécicas viven en galerías permanentes construidas verticalmente hasta a más de 2 metros de profundidad que abren en la superficie. Sus galerías pueden ser canales por preferencia, que permita fluir el agua, oxígeno y otros gases; están frecuentemente cubiertos de mucus proteína, pueden en muchos casos mostrar preferencia por el camino del crecimiento de las raíces, particularmente dentro de la capa profunda del suelo. El rol de las especies anécicas en la fertilidad del suelo y producción de las plantas ha sido poco estudiado.(Fragoso, y col. 1997).

#### 4.2.3 Endógeas.

Las lombrices endógeas no son pigmentadas. Pueden ingerir diariamente grandes cantidades de suelo, donde depositan una estructura resistente grumosa. Ellos digieren materia orgánica del suelo con una directa asociación mutualista con la microflora del suelo.

En la parte anterior del intestino los microorganismos encuentran las condiciones apropiadas para su actividad, especialmente por el alto contenido de agua y materia orgánica asimilable, en él forman mucus intestinal y hacen que el pH sea neutro. En la parte media del intestino, los microorganismos tienen su desarrollo a expensas del mucus producido por la lombriz. El producto de su digestión es reabsorbido por la parte posterior del intestino (Lavelle, y col., 1989).

Las especies endógeas realizan una compleja interacción con los microorganismos del suelo para obtener sus nutrientes: Algunas especies endógeas son hábiles para digerir porciones específicas de materia orgánica del suelo a través de la producción de sustancias enzimáticas, pero muchos obtienen sus nutrientes por la relación mutualista con la microflora intestinal facilitando la digestión del complicado sustrato orgánico, el cual es reabsorbido en la parte posterior del intestino (Fregoso, y col., 1997).

#### 4.3 La Vermicultura.

El vermicomposteo puede ser utilizado como una alternativa para estabilización de biosólidos, ya que los indicadores patógenos se reducen, reducción de coliformes fecales, reducción de salmonela spp., reducción de virus entéricos (Eastman y col. 2001).

La vermicultura o vermicompostaje es un proceso de biooxidación de materiales orgánicos, mediado por la acción combinada de lombrices y microorganismos, a través del cual se obtienen productos estables, ricos en poblaciones microbianas y de granulometría fina denominada vermicomposta o abono orgánico (Elvira C, y col., 1995). Adicionalmente, la biomasa de las lombrices, en fresco o deshidratada, puede ser utilizada como base para el alimento de pájaros, peces, gatos, perros, gallináceas y otros animales ya que es muy rica en proteínas (del orden del 70-75% en una harina de lombriz) (Bellapart, 1988).

Las lombrices tienen uso en la estabilización de basura urbana, industrial y agrícola, además de producir fertilizante orgánico y proteína obtenida para alimento animal. Dados sus requerimientos nutricionales y reproductividad biológica, las especies *Eisenia fétida* y *Eisenia andrei* son ampliamente empleadas. Su modelo de desarrollo y reproducción está ampliamente documentado, demostrando su eficiencia en el proceso de vermicompostaje o vermicultura. (C. Elvira y col., 1996). El vermicompostaje es rico en nitrógeno y fósforo, tiene buena estructura, bajos niveles de metales pesados, baja conductividad, alto contenido de ácidos húmicos y buena estabilización y maduración (Elvira, y col. 1998.)

En la industria a gran escala, los lodos, son generalmente manejados a través de métodos de destrucción: incineración y relleno sanitario, pero el vermicompostaje podría ser una adecuada tecnología para su transformación. (Elvira, y col., 1997).

El uso de pulpa de papel, cieno, desechos de granjas y lodos de la industria lechera como material prima en el sistema de vermicompostaje puede ser un sistema potencial para convertir estos desechos en materiales disponibles y así evitar su extensión al ambiente. (Elvira, y col. 1998).

La adición al suelo de los lixiviados que resultan del proceso de vermicompostaje pueden contener importantes nutrientes orgánicos y variando la concentración de compuestos tóxicos dependiendo del origen del desperdicio. Los lixiviados pueden ser considerados recurso potencial de potasio para el sistema planta-suelo. Su uso en la agricultura puede inducir a deficiencias de potasio en las plantas especialmente si los lixiviados son adicionados al suelo con baja disponibilidad de potasio. (Elvira, y col. 1996).

Las excretas de las lombrices pueden tener tres formas principales: granular, globular y/o compuestas (mezcla de dos). En las excretas granulares, las partículas son generalmente pequeñas, frágiles y ricas en nutrientes. Las excretas globulares son normalmente pesadas, más resistentes a romperse y menos ricas en nutrientes. Las características de las excretas dependen de los nutrientes contenidos en el alimento. Así, las excretas de las lombrices epigeas y anésicas contienen grandes cantidades de materia orgánica fresca, mientras que las deyecciones de las endógeas pueden ser bajas en nutrientes

debido a que comen en las capas profundas del suelo, con escasa materia orgánica (Fregoso, y col. 1997).

#### 4.4 La Lombriz de Tierra.

##### 4.4.1 Taxonomía.

La lombriz que maneje pertenece al grupo de los Oligoquetos, a la familia Lumbricidae, al genero *Eisenia* especie *andrei*.

El phylum Annelida o anelidos esta compuesto por tres clases: los poliquetos, oligoquetos y huridinea. Los poliquetos son marinos mientras los oligoquetos (excepto por algunas pocas especies adaptadas) habitan el suelo.. Los poliquetos su desarrollo larvario es mas primitivo que el de los oligoquetos que tiene un su desarrollo embrionario en huevos o cocon que se nutren con fluidos que se dejan en el mismo huevo. Desde luego las grandes diferencias entre estos dos ordenes son sus órganos genitales. Los poliquetos tienden a separar los sexos, la producción de células sexuales se da en el epitelo celomático y las células sexuales son expedidas dentro del mar por ruptura de las paredes del cuerpo. Los oligoquetos por contrastes son hermafroditas, tienen sus órganos sexuales bien definidos de dos a tres segmentos y un mecanismo complejo y especializado de fertilización y dispersión de los huevos o cocones. (Edwardş y Lofty, 1972.)

Es posible que los poliquetos son antecesores de los oligoquetos o ambos son derivados de un ancestro acuático común.( Ob. Cit.)

##### 4.4.1.1 Familias, géneros y especies.

Muchos autores clasificaron a los oligoquetos. Michaelsen realizo el sistema básico de la taxonomía moderna de este grupo y lo dividió dentro de 9 familias, conteniendo alrededor de 152 géneros y 1,200 especies. Michaelsen (1921) reorganiza nuevamente esta clasificación dentro de 21 familias y 2 sub-ordenes, y Stephenson (1930) simplifica estas en 4 familias. Que difiere de la clasificación original de Michaelsen.( Ob. Cit.)

La clasificacion actual es:

- 1.- Moniligastridae.
- 2.- Megascolecidae (Ocnerodrilidae, Acanthodrilidae, Octochaetidae).
- 3.- Eudrilidae.
- 4.- Glossoscolecidae (Hormogastridae, Criodrilidae).
- 5.- Lumbricidae.

De estas familias dos son las mas importantes la Megascolecidae y las Lumbricidae. Las megacolecid es el grupo comprenden las especies que mas conocemos. Desde luego la familia mas importante es la Lumbricidae. La familia de estos gusanos su importantes porque estas dominaron familias endémicas de las zona palearticas incluyendo Europa, poseen la habilidad de colonizar nuevos suelos.

#### 4.4.1.2 Lumbricidae.

Las características que se utilizan para definir la familia son más frecuentemente su estructura interna, como el número y distribución del sistema reproductor, sacos testicular, espermateca y vesículas seminales, y algunas veces la posición de la molleja. Externamente la posición de los poros masculinos, la espermateca y los primeros poros dorsales y el espacio de las setas y algunas características específicas (prostomio y el peristomio). Otras formas es el uso para describir esta familia, incluye la septalización, posición de los poros femeninos, la presencia o ausencia de pigmentación y la posición segmentada del clitelo. La familia Lumbricidae es pequeña comparada con otras familias.

Setas. Son simples y puntiagudas.

Poros masculinos. Usualmente en el segmento 15, o raramente se desplaza de uno a cuatro segmentos posteriores.

Poros femeninos. Usualmente en el segmento 14.

Testículos. Se presentan de dos en dos pares en el segmento 10 a 11, no tiene próstata, pero raramente presentan una glándula que la asemeja.

Espermateca. Es presente simple pero diverticulada.

Ovarios. En el segmento 13.

Molleja. Simple, poco desarrollada que viene del intestino, esófago poseyendo glándulas calcíferas.

Clitelo. Sobresale, próximo a los poros masculinos.

Distribución. Ampliamente terrestres, unas pocas en agua dulce. Temperaturas y regiones del norte del hemisferio, Japón, Siberia, Asia Central, Europa, Norte de la India y Pakistán, Israel, Jordán, Norte de América. Muchas especies emigraron a todo el mundo.

Genero.

*Eisenia*: Siberia, sureste de Rusia, Israel, Europa, Norte América.

#### 4.2 Morfología y Fisiología.

##### 4.2.1 Descripción general.

La principal característica de las lombrices es que están divididas externamente a lo largo del cuerpo en segmentos y surcos o intersegmentos; estos últimos coinciden con las posiciones de los septos que dividen el cuerpo internamente. Los segmentos varían en anchura, usualmente son anchos en la región anterior y clitelar. La boca abre en la superficie dorsal del primer segmento o prostomio. El prostomio en forma de labio que sobresale de la boca varía en tamaño y en algunas lombrices puede ser tan pequeño que no puede ser distinguido (Edwards y Loft, 1977).

Paredes corporales. Las paredes del cuerpo consisten en una cutícula exterior o externa, la epidermis, una capa de tejido nervioso, una capa de músculos circulares y longitudinales y, finalmente, el peritoneo, el cual separa a las paredes del cuerpo del celoma (Op. Cit.).

- a) Cutícula. Es una envoltura delgada incolora y transparente, sin una capa celular. Consta de dos o más capas compuestas de fibras de colágeno, con unas capas no fibrosas y homogéneas; éstas están distribuidas irregularmente en medio de cada segmento en la parte anterior y están ausentes en la parte posterior de cada segmento; la cutícula está perforada por muchos y pequeños poros a través de los cuales se proyectan finos cabellos de células sensoriales (Op. Cit.).
- b) Epidermis. La epidermis consiste en una capa de diferentes tipos de células: las células basales son la mayor estructura celular de la epidermis y tienen prolongaciones que se extienden dentro de las bases de los músculos; estas células secretan material para formar la cutícula, son redondas y brillosas. La epidermis presenta dos formas de células glandulares: la mucosa o capa celular y lumen celular. La mucosa celular secreta mucus sobre la superficie de la cutícula para prevenir la desecación y para facilitar el movimiento a través del suelo. Las funciones de la células del lumen no son conocidas (Op. Cit.).
- c) Capa de tejido nervioso. Las células sensoriales, agrupadas para formar los órganos sensitivos que responden a estímulos táctiles, están esparcidas a través de la epidermis. Estas células son más numerosas en el vientre que en la superficie dorsal. El epitelio de la cavidad bucal lleva grupos de células sensoriales, las cuales pueden ser estimuladas por sustancias químicas asociadas con el sabor (Op. Cit.).
- d) Capa muscular. La epidermis está bordeada por una delgada superficie de membranas basales en la que descansa dos capas de músculos, los circulares y los longitudinales. Los músculos circulares consisten en fibras dispuestas alrededor de la circunferencia del cuerpo. Los músculos longitudinales constituyen una capa más compacta que los circulares, son continuos a todo lo largo del cuerpo y están dispuestos en paquetes unidos entre sí y conectados a los tejidos (Op. Cit.).

Celoma. El celoma es una larga cavidad extendida a lo largo del cuerpo. Se extiende desde el exterior del peritoneo en las paredes del cuerpo hasta el interior del peritoneo cubriendo el canal alimentario, dividido por septos transversales en porciones segmentales. Dos septos adyacentes son a veces fusionados con las paredes del cuerpo. Estructuralmente, los septos son fibras musculares, mayormente derivados de capas de músculos longitudinales, junto con algunos músculos circulares en la cara posterior, con conexiones de tejidos y vasos sanguíneos. Los septos están perforadas por poros que permiten constantemente el paso del fluido celomático entre los segmentos (Op. Cit.).

El fluido celomático es un líquido de color blanco lechoso o amarillo. La consistencia de los fluidos celomáticos difiere entre la diferentes especies de lombrices y en algunas depende de la humedad del aire donde viven las lombrices. Este fluido contiene muchas partículas anilladas diferentes en suspensión. Las inclusiones inorgánicas son principalmente cristales de carbonato de calcio, pero los cuerpos corpusculares en el fluido celomático de las lombrices incluye amebocitos fagocíticos, materiales alimenticios disueltos en agua; linfocitos vacuolares y mucositos (cuerpos lenticulares con elasticidad, componentes mucilaginosos) (Op. Cit.).

Muchas lombrices expulsan fluido celomático en respuesta a la irritación mecánica o química, o cuando hay temperaturas extremas de frío o calor. El fluido celomático es también expelido como

respuesta al estrés y cuando hay funciones severas como desecación, promoviendo la respiración cutánea y protege contra predadores (Op. Cit.).

Color. El color de las lombrices depende de ciertos pigmentos que se encuentran en forma de gránulos o células pigmentadas en la capa del músculo subcuticular. Usualmente la superficie ventral de las lombrices es más ligera en color que la dorsal. Raramente, la pigmentación se distribuye irregularmente, apareciendo como bandas segmentales oscuras, separadas ligeramente por bandas intersegmentales. A menudo la pigmentación es ligeramente rosa o violeta debido a la hemolinfa de la superficie capilar, visible a través de las paredes del cuerpo. Si las paredes del cuerpo son opacas, la cutícula es fuertemente iridiscente, haciendo que las lombrices aparezcan de color azulado o verdusco (Op. Cit.).

Clitelo. Es una glándula, porción de la epidermis asociada a la producción de los cocones. Su forma puede ser anular o de silla de montar, y en ocasiones puede distinguirse del resto del cuerpo solamente por el color, que usualmente es pálido u oscuro. La posición del clitelo y el número de segmentos hasta el que se extiende difiere considerablemente entre los oligoquetos (Op. Cit.).

Setas. Las setas son cerdas pareadas y dispuestas en circular alrededor de cada segmento; están situadas en folículos en el exterior de la pared del cuerpo y pueden ser extendidas o retraídas por medio de músculos protractores y retractores ligados a la base de los folículos. La forma y disposición de las setas es un carácter distintivo de cada especie de oligoquetos. Las setas son usadas para apretarse al sustrato, ya que su principal función es de locomoción. Así mismo, participan en el proceso fisiológico de la copula dado que proporcionan una estimulación física a la pareja, mientras otras setas son usadas para ejercer un efecto de unión, apretón, abrazadera o penetración en la piel (Op. Cit.).

#### 4.4.2.2 Reproducción.

Las lombrices son hermafroditas y muchas especies se reproducen por fertilización cruzada, aunque muchas especies pueden producir cocones por partenogénesis. Tienen ambas aberturas genitales (masculina y femenina) al exterior, como un par de poros en el sitio ventral o latero-ventral del cuerpo. Usualmente las lombrices tienen dos o más pares de poros espermatecales, pero en algunas especies están ausentes. Los poros femeninos comúnmente son un solo par, situados cada uno en un surco intersegmental (Op. Cit.).

En el periodo de cópula la lombriz no responde a estímulos externos, desde el toque a la luz. En este proceso grandes cantidades de mucus son secretadas, así cada una de las lombrices son cubiertas por un tubo de líquido viscoso en medio del segmento 9 y el borde posterior del clitelo (Op. Cit.).

Después de la cópula las lombrices se separan y cada clitelo produce una secreción, la cual se endurece en el exterior de la superficie. Cuando esto se produce, la lombriz retrocede dejando libre un tubo sobre su cabeza, el cual se cierra para formar el cocon, que contiene un fluido nutritivo; el óvulo y los espermatozoides son descargados en el tubo al pasar por la abertura espermatecal. Los cocones

recientemente formados son blandos, pero más tarde se endurecen y son muy resistentes a la desecación y otros daños (Op. Cit.).

#### 4.4.2.3 Tracto Digestivo.

El canal de alimento de la lombriz es básicamente un tubo extendido de la boca al ano, aunque es diferenciado dentro de una cavidad bucal, faringe, esófago, buche, molleja e intestino (Op. Cit.).

Boca y Faringe. La cavidad bucal ocupa solamente los primeros segmentos (uno y dos), con una o dos divertículos o evaginaciones. La faringe que no siempre es diferenciada de la cavidad bucal, se extiende hacia atrás hasta casi el sexto segmento del cuerpo. La superficie dorsal de la faringe es maciza, muscular y glandular y contiene las glándulas faríngeas, que aparecen como una masa blanquecina. Las lombrices usan la faringe como una bomba de succión, mediante contracciones musculares (Op. Cit.).

Esófago. Todos los oligoquetos tienen un esófago que abre a continuación de la faringe como un angosto tubo, modificado posteriormente en un buche y (o) molleja. El extremo posterior del esófago es el buche, una cámara de almacenamiento de delgadas paredes, a continuación la molleja es muscular y lineal de gruesa cutícula (Op. Cit.).

Intestino. El resto del canal alimentario es el intestino que es un tubo recto, largo y constreñido en cada septo. La digestión y la absorción del material alimenticio tiene lugar en el intestino. La superficie interna del intestino presenta muchos pequeños pliegues longitudinales y el área superficial es incrementada por grandes pliegues. El sistema epitelial del intestino está compuesto principalmente de células glandulares y células ciliadas no glandulares. El intestino tiene dos capas musculares, una interna circular y una externa longitudinal (Op. Cit.).

#### 4.4.2.4 Sistema Circulatorio.

El sistema circulatorio presenta tres vasos sanguíneos principales, uno dorsal y dos ventrales, extendidos a casi todo el largo del cuerpo unidos en cada segmento por vasos sanguíneos anillados en la periferia del celoma y las paredes del cuerpo. Los vasos longitudinales y dorsales son contráctiles y están asociados estrechamente al intestino, excepto en la porción anterior, donde están separados del intestino por el mesenterio. Dos vasos comisurales pasan alrededor del cuerpo en cada segmento, desde los vasos dorsales al vaso ventral o vasos subneural. Algunas de las comisuras terminan en válvulas o corazones (pseudo corazón). Los corazones bombean el flujo de sangre directo al cuerpo por medio de válvulas (Op. Cit.).

#### 4.4.2.5 Respiración.

La respiración se realiza directamente en la superficie del cuerpo. Las lombrices poseen estructuras especializadas ampliamente ramificadas en capilares y vasos sanguíneos embebidos en las paredes del cuerpo. El oxígeno disuelto en la superficie húmeda permeable pasa directamente a la cutícula y a la epidermis, hacia las delgadas paredes de los vasos, donde es tomado por la hemoglobina en la sangre y se distribuye a todo el cuerpo. La hemoglobina de la lombriz puede absorber y saturarse de oxígeno

a una presión atmosférica de apenas 152 mm. El fluido celomático está a una presión aún más baja (14mm), por lo que este oxígeno puede enriquecerse en el interior de tejidos cuando sólo hay disponibles pequeñas cantidades. La respiración depende de simple difusión y es ineficiente, pero la eficiencia de la hemoglobina y la baja presión interna de los fluidos del cuerpo en el gusano facilitan el trabajo muy satisfactoriamente (Op. Cit.).

La velocidad de respiración de la lombriz depende de la temperatura del suelo. En climas tropicales las lombrices respiran rápidamente porque en estas regiones las temperaturas son altas. Las lombrices pueden acumular oxígeno probablemente formando ácido láctico que puede ser más tarde resintetizado en glucógeno. Este puede ser el mecanismo por el cual las lombrices pueden sobrevivir por muchas horas sin oxígeno atmosférico (Op. Cit.).

#### 4.4.2.6 Nutrición.

Las lombrices obtienen sus nutrimentos de la materia orgánica en descomposición, o bien de material vivo: protozoarios, rotíferos, nemátodos, bacterias y hongos, entre otros. La mayor parte de estos son extraídos de grandes cantidades de suelo que pasan directamente a través del tracto digestivo. (Op. Cit.).

Los procesos de digestión fueron estudiados con detalle para una de las especies de lombrices, *Eisenia foetida*; en la parte anterior del sistema digestivo, que tiene el término de zona receptora, contiene la sensibilidad, boca prehensible, el esófago y la glándula faríngea que secreta ácido-mucús; contiene una amilasa pero probablemente no posee enzimas proteolíticas (Op. Cit.).

Los segmentos 15-44 se designan zona secretora. Estos contienen el buche que continúa en dirección de la molleja e intestino. La acción muscular de la superficie del cuerpo de la molleja guía el alimento al intestino. *E. foetida* secreta dos enzimas proteolíticas y una amilasa principalmente por el epitelio; una capa de células de las paredes intestinales secretan la mayor parte de mucus. La digestión del alimento pasa dentro del torrente sanguíneo directamente al epitelio intestinal y es transportado a varias partes del cuerpo y tejidos para su uso en el metabolismo o almacenamiento (Op. Cit.).

La última zona (segmentos 44 al ano) es nombrado zona de absorción, donde la materia no digerida en el contenido intestinal llega envuelta en una membrana peritrófica (Op. Cit.).

#### 4.4.3 Mecanismos de Adaptación.

Cuando la superficie del suelo se vuelve muy seca, muy fría o muy tibia, las lombrices tienen muchas formas de adaptación para sobrevivir en ambientes adversos. En primer lugar, los cocones pueden sobrevivir a la desecación y a temperaturas extremas mucho mejor que la lombriz, hasta que las condiciones se vuelvan más favorables. Además, las lombrices pueden emigrar al suelo más profundo donde las condiciones de temperatura son mejores (Op. Cit.).

Las lombrices que viven en suelo profundo se vuelven inactivas durante períodos adversos. Hay tres estados de dicha inactividad:



Quiridescencia o quietud, en el cual la lombriz responde directamente a las condiciones adversas y se vuelven activas tan pronto las condiciones se vuelven favorables (Op. Cit.).

Diapausa facultativa o facultad para detenerse, causada por condiciones ambientales adversas, pero no se termina hasta que el tiempo se vuelve favorable (Op. Cit.).

Diapausa obligatoria. Ocurre una vez al año, independientemente de las condiciones ambientales, usualmente como respuesta a secuencias de cambios ambientales o por algunos mecanismos internos (Op. Cit.).

#### 4.5 La Lombriz Roja Californiana (*Eisenia andrej*).

Normalmente la lombriz roja es conocida en el ámbito comercial con el nombre común de "californiana" porque fue en este estado de los EEUU donde se desarrollaron, a partir de los años 40, los primeros criaderos intensivos de lombrices. La lombriz roja vive normalmente en zonas con un clima templado. Su temperatura corporal oscila entre los 19 y los 20 °C, mide de 6 a 8 cm de longitud y entre 3 y 5 mm de diámetro. Es de color rojo oscuro y respira a través de la piel. No tiene dientes (Ferruzzi, 1994).

Esta especie de lombriz es muy tan activa que transforma todas las proteínas de los desechos y de los excrementos de los animales en humus. Dado que a menudo los animales no asimilan más del 25 al 40% de las proteínas ingeridas, las restantes las excretan y pueden ser asimiladas por las lombrices, si se les dan los estiércoles como alimento. Por otra parte, las lombrices tienen la propiedad de desodorizar los excrementos animales de los que se alimentan, y sus deyecciones constituyen un preciado abono orgánico (Bellapart, 1988).

##### 4.5.1 Características de Crecimiento.

Cultivada en desperdicio doméstico, en los primeros 30 días del proceso de fermentación *Eisenia andrej* supera este período crítico con baja mortalidad y muestra incremento en biomasa. En excreta de vaca muestra una alta velocidad de crecimiento, y en excreta de conejo incrementa rápidamente su biomasa alcanzando un peso medio significativamente alto (Elvira, y col., 1996).

La lombriz de tierra *E. andrej* es capaz de alcanzar buenos niveles de crecimiento y reproducción en desperdicios frescos, y sus excretas están constituidas por materiales estables con bajos niveles de sólidos volátiles, comparado con el producto del compostaje (Frederickson, y col. 1997).

##### 4.5.2 Sistema Digestivo.

La lombriz *E. andrej*, presenta cilios (del genero *Anoplophrya*, *Maupasella* y *Metaradiophrya*) en el tubo digestivo involucrados en la actividad celulolítica, localizados en la molleja y en el intestino anterior. A nivel del intestino anterior e intestino medio, existe una importante trama de mucopolisacáridos donde se sitúan bacterias de formas bacilares. Este mucus que tapiza la pared del tubo digestivo debe permitir la vida de estas bacterias pegadas al epitelio, asociadas al bolo alimenticio. La producción de

mucus favorece las actividades funcionales de estos microorganismos (Vincelas-Akpa y Loquet, 1996).

El ecosistema del tubo digestivo presenta características diferentes del medio ambiente edáfico. La estructura, el revestimiento natural del tubo digestivo, el pH y el potencial de energía explican la presencia de una microflora residente adaptada (Op. Cit.).

*Eisenia andrei* posee enzimas celulolíticas en diferentes niveles del tubo digestivo. La acción esta complementada por la actividad microbiana (Vincelas-Akpa M, Loquet M, 1996).

*E. andrei* es un detritívoro que puede ingerir ricos substratos con microflora celulolíticas, aportando así más enzimas. Estas enzimas se albergan en el tubo digestivo de *E. andrei*. La existencia de sinergismo entre dos enzimas de organismos diferentes es necesaria para las lombrices en la degradación de la celulosa. Esto sugiere la asociación de las lombrices con una microflora celulolítica, en un sistema de digestión mutualista (Op. Cit.).

#### 4.5.3 Microflora Asociada.

V. Kristufek y col. 1992 estimaron el número de bacterias, actinomicetos y micomicetos en el contenido estomacal de dos especies de lombrices usando la técnica de placa y el método de fluorescencia microscópica. Un incremento en número de todos los tres grupos microbiales fueron observados en el intestino de *Lumbricus rubellus* durante el paso de los residuos por el tracto digestivo.

Los micomicetos fueron relativamente estables en número en las tres secciones intestinales. El número de bacterias vivas estimadas por el método de fluorescencia microscópica, correspondió en general con el contenido de la placa, aunque fue detectado un incremento en el número de bacterias en la parte media y posterior del intestino de *Aporrectodea caliginosa*. Los factores que podrían ser responsables de las diferentes comunidades intestinales de microorganismos entre las dos especies son discutibles (V. Kristufek et al., 1992).

Un análisis y selección representativa de bacterias y actinomicetos realizado por S. Rashed y Dozsa-Farkas (1992) de una cepa aislada de la parte posterior de la cutícula de *Fridericia hegemon* (Enchytraeidae), reveló la presencia de pseudomonas, predominando *Pseudomona aureofaciens*.

Un estudio realizado por Toyota K. Y Kimura M. (2000), con la lombriz de tierra *Eisenia foetida* revelo que la bacteria que predomina en su tracto digestivo es *Aeromona hydrophila*.

#### 4.6 Bacterias Patógenas.

La familia Enterobacteriaceae, comprende una larga lista de bacterias cuyo principal hábitat es el tracto intestinal del hombre y animales, incluyendo muchas bacterias que son normalmente consideradas inofensivas. Dos géneros de ellos son patógenos: *Salmonella* y *Shigella*. Todos son gramnegativos, fermentan carbohidratos y reducen nitratos a nitritos. (Carpenter, 1997).

#### 4.6.1 Escherichia coli.

Escherichia comprende los coliformes habituales, están difundidos en el tracto intestinal de la mayor parte de los individuos. Son usualmente no patógenos, pero son oportunistas y producen enfermedades cuando ganan acceso a un tejido o órgano susceptible, produciendo enfermedades intestinales en infantes y debilidad en individuos (Op. Cit.).

Escherichia coli es la especie predominante en el intestino grueso, por ello se le denomina también colibacilo ( Davis, y col. 1984).

##### 4.6.1.1 Características de Cultivo.

Al crecer en medio EMB , E. coli da lugar a una turbidez uniforme en el medio de cultivo. La mayoría de estas cepas poseen flagelos, y por tanto son móviles. Las cepas lisas (S) forman colonias incoloras, convexas y brillantes, pero al ser subcultivadas repetidamente en medio artificial se convierten en cepas rugosas (R) que forman colonias granulares y opacas. Las variantes encapsuladas producen colonias mucoides, sobre todo si son incubadas a bajas temperaturas y en medios con baja concentración de nitrógeno y fósforo y una elevada concentración de hidratos de carbono. Estos microorganismos fermentan la lactosa, y en agar eosina-azul de metileno (EMB) y agar Endo presentan reflejos metálicos característicos. Existen cepas que fermentan la lactosa tardíamente, de forma irregular, o no lo hacen en absoluto (Op. Cit.).

E. coli produce ácidos y gas a partir de una amplia variedad de hidratos de carbono, pero existen cepas que fermentan la glucosa produciendo ácido, pero no gas. En medios que contienen triptófano, E. coli produce indol y es positiva para el rojo de metilo, pero no produce acetoina ni utiliza el citrato como única fuente de carbono (reacción IMVIC). Los bacilos coliformes resultan más sensibles que las salmonelas o la shigelas frente a la inhibición por acción de elevadas concentraciones de citrato (Op. Cit.).

##### 4.6.1.2 Enfermedades extraintestinales.

E. coli causa generalmente procesos patológicos del aparato urinario. Se concibe que los microorganismos puedan desplazarse desde el tubo intestinal a las vías urinarias y los riñones a través de las vías hematógena o linfática, pero más a menudo se utiliza la vía ascendente que parte de la uretra y pasa por la vejiga (Op. Cit.).

A menudo se observa a E. coli junto con otras bacterias entéricas, en la sepsis adyacente al tubo intestinal ( peritonitis, apendicitis, e infecciones de la vesícula biliar y vías biliares). Se observa también E. coli en la piel del perineo y de los genitales y con frecuencia infecta las heridas que se contaminan con heces u orina (Op. Cit.).

Actualmente E. coli constituye la especie más frecuente en la septicemia gramnegativa, en la que da lugar a un choque grave parecido al que producen las inyecciones intravenosas de endotoxina en los

animales de laboratorio. Esta enfermedad ha venido observándose con frecuencia creciente en niños pequeños (en los que provoca a menudo meningitis) y en los enfermos debilitados por un tratamiento de corticosteroides, agentes inmunosupresores o leucemia (Op. Cit.).

Ciertas cepas de E. coli muestran patogenicidad, ya sea enterotóxica o enteroinvasora. Algunas presentan ambas (Op. Cit.).

Las cepas enterotóxicas (ETEC) producen una enterotoxina termolábil o una termoestable, o ambas. La toxina termolábil (TL) se parece mucho a la toxina del vibrio colérico, en su peso molecular (unos 80,000), especificidad serológica y acción (activación del adenilciclase). La toxina termoestable (TE), mucho más pequeña (p.m. de unos 8,500) es poco antigénica y es resistente a la proteasa y al calentamiento a 100° C; activa la guanilciclase. Los sistemas de cultivo de tejidos constituyen una prueba sensible para la TL, pero son laboriosos y caros (Ob. Cit.).

Actualmente se están efectuando pruebas inmunológicas más simples. La toxina TE se analiza mediante la inyección en el estómago de un ratón lactante o en el interior de un asa ileal ligada de un animal mayor (Op. Cit.).

Para causar enfermedad, las cepas toxígenas tienen que producir también un factor de superficie (pilus) para la colonización del intestino delgado, puesto que las toxinas son activas allí pero no en el colon (Ob. Cit.).

Las cepas enterotóxicas son ahora reconocidas como agentes patógenos en todo el mundo, provocando procesos patológicos que van desde el síndrome coleriforme y la diarrea infantil grave hasta la diarrea del viajero más leve. La diarrea no es sanguinolenta y carece de células de pus (Op. Cit.).

La capacidad invasiva ha sido recientemente identificada como un mecanismo patogénico distinto y menos común. Las cepas de E. coli enteroinvasivas (ETEC) pueden penetrar en el epitelio intestinal, principalmente en el colon (con menos frecuencia en el intestino delgado), sin provocar una enfermedad general. Da lugar a un síndrome (colitis) muy parecido al de la shigela tanto en niños como en adultos, con intensos calambres abdominales y con pus y sangre en las heces (Op. Cit.).

La mayoría de las cepas de E. coli son sensibles a las sulfamidas, aminoglucósidos, cloranfenicol, tetraciclinas, ampicilina, carbenicilina y cefalosporinas. La resistencia, a menudo mediada por plásmidos, es frecuente. (Berkeley, y col. 1994).

El tratamiento con una sulfamida o ampicilina es generalmente adecuado en las infecciones del aparato urinario simples agudas. En los niños con diarrea debida a E. coli enteropatógena son efectivas la neomicina o colistina por vía oral. La eficacia de los antimicrobianos no ha sido establecida (Op. Cit.).

Al analizar las reservas de agua, es importante distinguir E. coli, que es un índice de contaminación fecal (Davis, y col. 1984).

#### 4.6.1.3 Reacciones de Identificación.

Cuatro pruebas metabólicas (indol, rojo metilo, Vogas-Proskauer y la utilización de citrato), reciben colectivamente el nombre de pruebas IMViC (Davis, y col. 1984).

E. coli produce indol en medios que contienen triptófano. La prueba del rojo de metilo distingue entre producción intensa y ligera de ácido porque este indicador se desplaza del amarillo al rojo por debajo de un pH de 4,5 y en los cultivos de caldo de glucosa-peptona solamente la fermentación ácida mixta produce suficiente ácido para poner rojo el indicador (Ob. Cit).

La reacción de Vogas-Proskauer es una prueba de color para la acetoina, un producto del tipo de fermentación del butilenglicol. El citrato puede servir de fuente exclusiva de carbono para Enterobacter aerogenes pero no para E. coli (Op. Cit.).

E. coli es a menudo subdividida serológicamente o por la presencia de factores de virulencia identificados y caracterizados directamente patógenos epidemiológicamente (Berkeley, B., et al., 1994). Los serotipos incluye somático (O), capsular (K) y flagelar (H) (Op. Cit.).

#### 4.6.2 Salmonella.

El género Salmonella comprende una gran variedad de especies patógenas para el hombre o animales y habitualmente para ambos. No fermentan la lactosa ni la sacarosa y, con pocas excepciones, produce abundante H<sub>2</sub>S. Son móviles y descarboxilan la lisina y la ornitina. Para el aislamiento de las salmonelas de las heces se utilizan medios selectivos que contienen inhibidores químicos tales como: el verde brillante, desoxicolato, selenito, tetrionato y citrato (Davis, y col. 1984).

El género Salmonella incluye a más de 2,000 serotipos que infectan al hombre. Salmonella es un bacilo gram-negativo, anaerobio facultativo, móvil mediante flagelos peritricos. (Giono S. y col. 1994).

##### 4.6.2.1 Enfermedades intestinales.

En el hombre se dan tres formas clínicamente diferentes de salmonelosis: fiebre entérica, septicemia y gastroenteritis aguda ((Davis, y col. 1984).

El prototipo de la fiebre entérica es la fiebre tifoidea causada por S. typhi. La enfermedad empieza generalmente de manera insidiosa, tras un período de incubación de 7 a 14 días, con malestar, anorexia y cefalea, seguidas de fiebre. Los microorganismos ingeridos se multiplican en el tubo gastrointestinal y algunos penetran en los linfáticos intestinales, desde los cuales se diseminan por todo el cuerpo a través de la corriente sanguínea y son excretados por la orina (Op. Cit).

La bilis es un buen medio de cultivo para S. typhi, por lo que produce un crecimiento exuberante en las vías biliares que proporciona un flujo continuo de microorganismos hacia el intestino delgado, donde suelen localizarse en las placas de Peyer (Op. Cit.).

La fiebre aumenta a menudo de una manera brusca y va acompañada de bradicardia relativa. La postración puede ser importante, en especial durante la primera semana y, si bien en general no hay

diarrea, se producen corrientemente distensión y dolor abdominal. Puede haber tos y signos de bronquitis; en el tronco pueden aparecer manchas rosadas que duran sólo unos días; y son frecuentes la esplenomegalia y la leucopenia. En los casos más graves, puede haber obnubilación y a veces el enfermo delira. Después de la tercera semana, la fiebre suele repetir por lisis gradual. En los casos fatales, la lesión más importante observada en la autopsia es la hiperplasia linfoide; las ulceraciones en las placas de Peyer pueden provocar hemorragias intestinales o perforaciones del intestino (Op. Cit.)

Las fiebres entéricas producidas por otras salmonelas (fiebres paratifoideas) son generalmente menos graves y poseen un período de incubación más corto (1 a 10 días). En las fases iniciales se produce una bacteriemia, la fiebre dura de 1 a 3 semanas y la manifestación de machas rosadas es poco frecuente. Las fiebres entéricas pueden ser producidas por la casi totalidad de las salmonelas (Op. Cit.).

Las septicemias por Salmonella se caracterizan por la existencia de fiebre remitente y bacteriemia, sin que en general haya afección aparente del tubo digestivo. Pueden aparecer lesiones supuradas en cualquier lugar del organismo como, por ejemplo, vías biliares, riñones, corazón, meninges, articulaciones y pulmones. Las septicemias prolongadas de este tipo son producidas, en general, por S. choleraesuis. (Op. Cit.).

Las infecciones extraintestinales por Salmonella se producen a menudo en asociación con enfermedades crónicas subyacentes o falta de defensas, por ejemplo, cáncer metastásico o drepanocitemia (Op. Cit.).

La gastroenteritis, una forma de la enfermedad confinada fundamentalmente al tracto gastrointestinal, es la clase más corriente de infección por salmonelas. Los síntomas empiezan de 8 a 48 horas después del consumo de alimentos contaminados con diarrea que va desde una forma ligera hasta una fulminante con comienzo súbito y violento (intoxicación alimentaria). La cefalea, los escalofríos y el dolor abdominal van seguidos de náuseas, vómitos, diarrea y de fiebres que duran de 1 a 4 días. Los hemocultivos rara vez son positivos, pero los microorganismos pueden cultivarse generalmente a partir de las heces (Op. Cit.).

La diarrea de la enteritis por salmonelas afecta tanto el intestino delgado como el colon con invasión de la mucosa. Se desconoce el mecanismo de la secreción líquida (Op. Cit.).

Después de una salmonelosis activa los microorganismos se establecen a veces en el huésped, que entonces continúa excretando indefinidamente hasta 10 a la sexta a 10 a la novena S. typhi por gramo de heces. La fuente suele ser un foco supurativo crónico situado en las vías biliares. Cuando los portadores son tratados con antibióticos de amplio espectro pueden enfermar de salmonelosis activa, de manera parecida a como la sensibilidad aumenta en el ratón mediante los tratamientos que alteran el equilibrio normal de su flora intestinal (Op. Cit.).

Para la fiebre tifoidea y las septicemias por salmonelas el cloranfenicol ha sido desde hace mucho tiempo el fármaco de elección, aunque han aparecido cepas resistentes al mismo. Por ello son necesarias pruebas de sensibilidad. La ampicilina por vía parenteral y el trimetoprim-sulfametoxazol suelen ser alternativas efectivas. Se ha observado resistencia mediada por plásmidos frente a muchos antimicrobianos. La respuesta al tratamiento suele ser rápida, pero debido a que los microorganismos

tienden a sobrevivir dentro de células fagocíticas, son frecuentes las recaídas, a menos que el enfermo sea tratado durante dos semanas (Op. Cit.).

En las gastroenteritis por salmonelas no deben utilizarse antibióticos (excepto en niños de corta edad y en pacientes de más de 60 años), ya que la enfermedad dura poco y se limita al conducto gastrointestinal. Además, el empleo indiscriminado de antibióticos prolonga la excreción de *Salmonella*, eleva la incidencia de portadores y favorece la adquisición de una resistencia a los antibióticos por la cepa infectante (Op. Cit.).

Los serotipos de la salmonela son representados por los antígenos O (somáticos), Vi (capsular) y H (flagelar) (Berkeley, y col. 1994).

Dos principales tipos de enfermedades gastrointestinales son atribuidos a salmonela: fiebres entéricas y gastroenteritis. La fiebre entérica, caracterizada por una bacteremia inicial con fiebres continuas, y los síntomas de una naturaleza general. La gastroenteritis se acompaña con vomito y diarrea y únicamente bacteremia ocasional. La fiebre entérica se produce por una infección oral con *S. typhi*, los organismos pasan a los tejidos linfáticos por la faringe, de la faringe al intestino y de ahí al torrente sanguíneo, que son removidos por las células del sistema reticuloendotelial (hígado, bazo, nudo mesentéricos linfáticos, médula) (Carpenter, 1997).

La gastroenteritis se produce por ingerir alimentos contaminados. El período de incubación es de 8 a 48 horas, los síntomas incluyen náuseas, vómito agudo, diarrea, postración y periodos de fiebre (Op.Cit.).

Los alimentos son infectados de dos maneras principalmente. Algunas especies de salmonela son patógenos naturales de animales domésticos y su carne o productos pueden contener el organismo. Los huevos de gallina pueden ser contaminados y la bacteria estar en la yema; entre el 2 y el 10 % de los cerdos y ganado vacuno han sido reportados como infectados con salmonela. La comida también puede infestarse durante el almacenamiento y la preparación, por ratas y ratones que habitan en los lugares donde se almacenan o por humanos portadores (Op. Cit.).

#### 4.6.3 *Shigella*

El genero *Shigella* incluye bacilos gram-negativos aerobios, no esporulados. ( Giono S. y col. 1994).

Las shigelas son mucho menos invasoras que las salmonelas, y rara vez causan bacteriemia. Habitan sólo en los tubos digestivos de primates (o en contadas ocasiones, de perros). Causan en el hombre una enfermedad perturbadora, la disentería bacilar (del griego dys + enteron, intestino enfermo) (Davis, y col. 1984).

Las propiedades que distinguen al genero *Shigella* de la mayoría de las salmonelas comprenden la falta de movilidad, la incapacidad para producir gas durante la fermentación (salvo para varios biotipos de *S. flexneri* y cepas extrañas de *S. boydii* y la falta de lisina descarboxilasa. Las shigelas poseen Ag O polisacáridos específicos, pero al ser inmóviles carecen de Ag H (Op. Cit.).

#### 4.6.3.1 Enfermedades intestinales.

La totalidad de las especies incluidas en el género *Shigella* resultan patógenas para el hombre. Los microorganismos invaden las células epiteliales intestinales y las lesiones producidas están en gran parte limitadas al íleon terminal y al colon: estas lesiones son principalmente ulceraciones de la mucosa, cubiertas por una pseudomembrana compuesta de leucocitos polimorfonucleares, restos celulares y bacterias, englobados todos ellos en una red de fibrina. Se cree que estas lesiones se originan cuando los organismos atraviesan la barrera epitelial y penetran en la lámina propia. La acumulación local de productos metabólicos y la liberación de endotoxinas dan lugar después a la destrucción de las células epiteliales. La penetración más allá de la submucosa es rara (Op. Cit.).

*S. dysenteriae* tipo 1 (*S. shigae*, bacilo de Shiga) produce una neurotoxina distinta de la endotoxina común a todas las shigelas: causa parálisis periférica y la muerte cuando es inyectada a conejos y ratones. Recientemente se observó que un preparado purificado también es citotóxico para diversas células de mamíferos y que posee actividad de enterotoxina. La toxina actúa inhibiendo la síntesis proteica (Op. Cit.).

El papel de la toxina está por definir, pero es evidente que la producción de toxina por sí sola no es suficiente para conferir virulencia a las shigelas: las cepas mutantes toxigénicas no invasoras no causan shigelosis ni en voluntarios ni en monos, mientras que las invasoras no toxígenas sí producen la enfermedad. Por lo tanto, la penetración epitelial es al parecer el principal determinante de la virulencia (Op. Cit.).

La disentería por el género *Shigella* se caracteriza por dolor abdominal, diarrea y fiebre, de aparición repentina tras un período de incubación de 1 a 4 días. Es corriente tanto la presencia de sangre como de moco en las heces. Cuando la diarrea es grave, la pérdida de agua y sales puede causar deshidratación y desequilibrio electrolítico, particularmente en los niños y en jóvenes.

En general, la shigelosis se autolimita y dura sólo unos días. Durante la convalecencia aparecen en la sangre aglutininas específicas y pueden hallarse anticuerpos en las heces (coproanticuerpos) (Op. Cit.).

La gravedad de la disentería producida por el género *Shigella* varía según el microorganismo causal y, en general, el orden de gravedad es como sigue: *S. sonnei*, *S. boydii*, *S. flexneri* y *S. dysenteriae*, oscilando entre una ligera alteración intestinal y una profusa diarrea sanguinolenta acompañada de fiebre y postración grave (Op. Cit.). Para los enfermos muy graves y para los niños pequeños y adultos debilitados es necesario el tratamiento antimicrobiano, así como la administración intravenosa de líquidos y electrolitos. En la actualidad, la ampicilina es considerada el fármaco de elección: Las shigelas generalmente son sensibles también a los aminoglucósidos, tetraciclinas, ácido nalidixico y colistina, pero es necesario determinar el patrón de sensibilidad de la cepa del paciente (o de la epidemia). Los plásmidos de resistencia están muy extendidos (Op. Cit.)

El género *Shigella* cuenta con 4 especies, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, y *S. sonnei*. Estos son a menudo referidos como subgrupos A, B, C, y D respectivamente. Antígeno somático (O) (Berkeley, R. C. W. et al. 1994).



La disenteria es una infección aguda en la parte inferior del íleon y el colon, el periodo de incubación seguido de su ingestión es usualmente de 48 horas y los síntomas comienzan sucesivamente con fiebres, dolor abdominal, vómito y diarrea, seguido de ulceración y marcada inflamación en la mucosa intestinal. (Carpéner, 1997).

## V.- MATERIALES Y MÉTODOS.

El trabajo experimental se realizó entre noviembre de 1997 y diciembre de 1998, en las instalaciones del Departamento de Control Microbiológico, adscrito al Centro Estatal de Laboratorios de la Secretaría de Salud Jalisco.

Las cepas de microorganismos estudiados, proporcionadas por el Departamento de Control Microbiológico, eran las siguientes:

Escherichia coli, Salmonella enteritidis y Shigella flexneri.

Para conocer si las lombrices son capaces de alimentarse de las bacterias patógenas y por ende destruirlas, tanto el sustrato como el alimento fueron inoculados con medios de cultivo conteniendo las bacterias, con el fin de asegurar su presencia en concentraciones conocidas.

Con el objetivo de conocer la evolución de las colonias de bacteria inoculadas en el sustrato y alimento a través del paso por el tracto digestivo de las lombrices así como su permanencia en el Casting, el trabajo se subdividió en cuatro fases:

FASE I. Selección del sustrato y/o el alimento adecuados.

FASE II. Determinación de la viabilidad de las bacterias en los sustratos seleccionados.

FASE III. Comprobación de la presencia de las bacterias patógenas en el tracto digestivo de la lombriz.

FASE IV. Determinación de las bacterias patógenas en las excretas (casting) de la lombriz.

### 5.1 Selección del sustrato y alimento adecuados.

#### 5.1.1 Materiales utilizados.

Para determinar el sustrato y/o el alimento idóneos de las lombrices para el manejo de las bacterias se probaron los siguientes materiales:

Cuadro 01: Muestra los sustratos y/o alimentos que se ensayaron con la lombriz, para obtener resultados positivos en la sobre vivencia de la lombriz.

SUSTRATOS	Y/O	ALIMENTOS
Agar dextrosa.		Papel higiénico.
Pseudotallo de plátano.		Zanahoria.
Tejido de Palma ( <i>Phoenix dactylifera</i> ).		Excretas de conejo.
Casting.		Estiércol vacuno.
		Lechuga.

Aunque no existen referencias del empleo del agar dextrosa como sustrato ni como alimento en lombricultura, se ensayó suministrándolo directamente a las lombrices, para determinar si podría ser empleado por las mismas como sostén y alimento y de esta manera

evitar el uso de un segundo sustrato inoculado con las bacterias. La figura 01 muestra todos los sustratos y/o alimentos que se utilizaron.

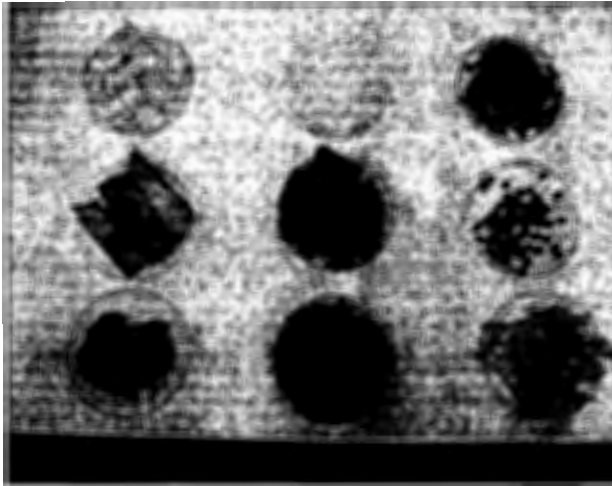


Figura 01: Muestra los sustratos y/o alimentos que se ensayaron con las lombrices.

De lado izquierdo papel higiénico, pseudotallo de plátano, estiércol vacuno, en la parte de en medio del lado superior tenemos el agar dextrosa, tejido de palma (*Phoenix dactylifera*) casting y en la parte superior derecha tenemos la zanahoria, excretas de conejo y lechuga.

#### 5.1.2 Preparación de los materiales.

Tanto los sustratos como los potenciales alimentos de las lombrices fueron esterilizados previamente. El tejido de palma, así como las excretas de conejo y de vaca, se esterilizaron por separado en autoclave, a presión de 20 libras durante 20 minutos, en frascos de vidrio con capacidad de 500 gramos. En figuras 02 y 03 se puede ver los aparatos apropiados para la esterilización del material utilizado.

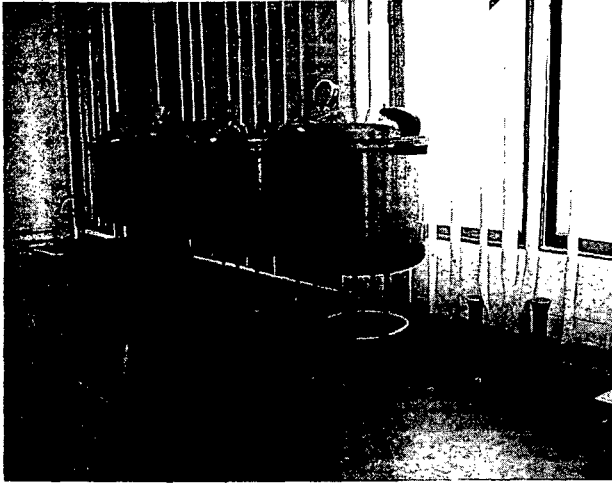
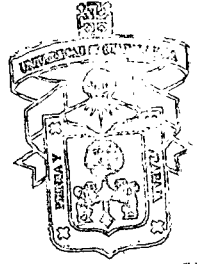


Figura 02: Muestra las ollas de presión en donde se esterilizo el material.



Figura 03: Autoclave que se utilizo para esterilizar el material.

La zanahoria y el pseudotallo de plátano fueron fragmentados en pequeñas porciones para facilitar la fermentación y el ulterior consumo por parte de las lombrices.

Después de la esterilización de los materiales, se realizaron pruebas de control en los medios agar Eosina azul de metilo (EMB) y *Salmonella-Shigella* (SS), para verificar que no hubiera crecimiento bacteriano.

### 5.1.3 Inoculación y cultivo de la lombriz.

La prueba de los materiales fue hecha en recipientes circulares de plástico (12 cm de diámetro por 9 centímetros de altura); en cada recipiente se depositaron 20 gramos de uno de los materiales, humedecidos a capacidad de campo, inoculando a continuación 20 lombrices del estadio adulto. Los sustratos se humedecieron previamente hasta la capacidad de campo (80%) aproximadamente, para facilitar el consumo por parte de las lombrices y que este pudiera además servir de sustrato de sostén. Las lombrices utilizadas fueron extraídas de los criaderos de la planta piloto establecida en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara.

Después de 05 días de cultivo, se determinó que los materiales idóneos eran el tejido de palma y las excretas de conejo, como sustrato y como alimento, respectivamente. La figura 04 muestra los sustratos utilizados.

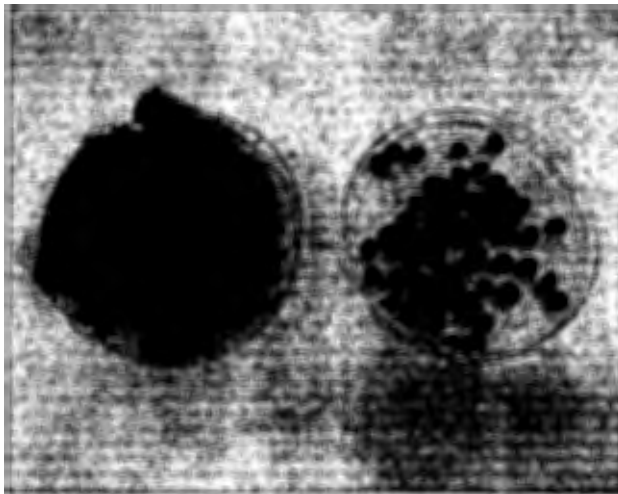


Figura 04: El sustrato/alimento que se utilizaron en el experimento.

## 5.2 Preparación y enriquecimiento de los cultivos bacterianos.

Dado que en la literatura no existen referencias acerca de la concentración de inóculo bacteriano que puedan soportar las lombrices, se realizaron ensayos para determinar la cantidad del medio a inocular, comparando las concentraciones de prueba con el tubo de Mac Farland (5: 1.500 millones de bacterias/ mililitro y 3: 900 millones de bacterias/ mililitro).

### Escala de Mac Farland

Existe la posibilidad de estimar cargas altas de microorganismos, comparando a simple vista con una escala formada por tubos numerados de 1 a 10 y elaborada con diferentes cantidades de sulfato de bario.

Se conoce la cantidad aproximada de células bacterianas a que corresponde cada tubo, y de esa forma se puede estimar la cantidad de microorganismos presentes.

Para el enriquecimiento del caldo nutritivo se utilizaron tubos de ensayo de 20 ml con tapa de rosca, los cuales contenían 9 mililitro de caldo nutritivo; cada tubo fue inoculado con la cepa bacteriana de interés y se incubó a 37° C durante 4 horas, hasta igualar la concentración del tubo 3 de Mac Farland (concentración estándar). Luego se añadieron 9 mililitro de solución diluyente, con el objetivo de homogeneizar los sustratos con la presencia de la bacteria. La figura 5 muestra los tubos que se utilizaron.

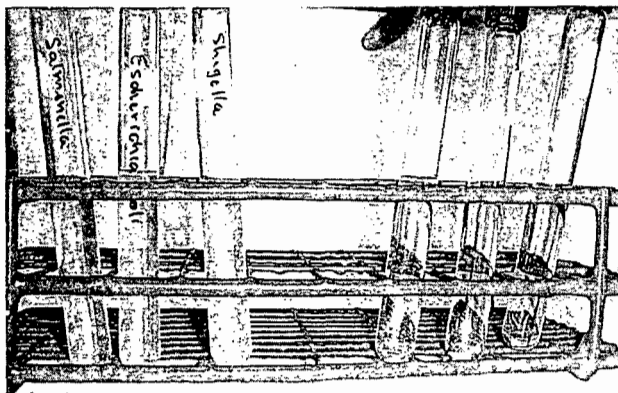


Figura 05: Tubos de ensayo con caldo enriquecido y sin enriquecer.

### 5.3 Determinación del potencial bactericida de la lombriz.

Durante nueve días consecutivos del desarrollo experimental, se evaluó la persistencia de las bacterias patógenas en el sustrato utilizado por las lombrices, así como en las diferentes secciones (anterior, media y posterior) del tracto digestivo de aquellas. Para ello, tanto el sustrato como el alimento fueron rociados con el caldo nutritivo enriquecido con bacterias, y periódicamente se determinó la presencia de las bacterias.

#### 5.3.1 Diseño experimental.

Se establecieron 12 tratamientos con tres réplicas cada uno de ellos, en un arreglo experimental completamente aleatorio. Cada tratamiento consistió en una de las cepas bacterianas (*E. coli*, *Salmonella* o *Shigella*) y en un tiempo de incubación determinado (4 o 24 horas). En cada uno de los casos, se determinó la persistencia de las bacterias tanto en el sustrato como en el tracto digestivo de las lombrices.

Cuadro 02: Tratamientos.

Especie inoculada	Tiempo de incubación	Muestras analizadas
<i>E. Coli</i>	4 horas	Sustrato
		Tracto digestivo
	24 horas	Sustrato
		Tracto digestivo
<i>Salmonella</i>	4 horas	Sustrato
		Tracto digestivo
	24 horas	Sustrato
		Tracto digestivo
<i>Shigella</i>	4 horas	Sustrato
		Tracto digestivo
	24 horas	Sustrato
		Tracto digestivo

#### 5.3.2 Tratamiento previo de las lombrices.

Previamente a la inoculación, y con el fin de limpiar de cualquier residuo de estiércol el tracto digestivo de las lombrices, éstas fueron alimentadas con lechuga fresca desinfectada con Microdin®, según instrucciones de este producto. En cada recipiente se inocularon 20 g de lombrices, y después de 24 horas se desechó la lechuga, extrayéndose las lombrices de ese sustrato. La figura 06 tiene las lombrices previo al experimento, se dejaron en lechuga para limpiar el tracto digestivo.



Figura 06: Muestra las lombrices en la lechuga.

### 5.3.3 Siembra de las lombrices e inoculación de bacterias.

Las lombrices fueron sembradas en nueve recipientes circulares de plástico (12 cm de diámetro por 9 cm de altura); en cada recipiente se colocaron 40 g del sustrato (tejido de palma) y a continuación se depositaron 20 g de lombrices y 20 g de excretas de alimento (excretas de conejo). Luego, se adicionaron las bacterias, bañando tanto el sustrato como el alimento con 18 ml de caldo nutritivo diluido enriquecido con las bacterias de interés. Cada una de las cepas bacterianas fue inoculada en tres recipientes. En la figura 07 se muestra las lombrices en los sustratos utilizados.



Figura 07: Muestra el sustrato, alimento y las lombrices en estadio adulto.



### 5.3.4 Determinación de la viabilidad de la bacteria en los sustratos.

Para determinar la viabilidad de la bacteria en el sustrato, 24 horas después de la inoculación se tomaron nueve muestras de sustrato (una de cada recipiente); cada muestra fue sembrada en dos tubos de ensayo con 3 mililitros. de caldo soya; uno de los tubos fue incubado a 37° C durante 4 horas, y el segundo se incubó a la misma temperatura durante 24 horas. La figura 08 tiene los tubos de ensayo con el caldo soya, esto para determinar la viabilidad de las bacterias en los sustratos.



Figura 08: Muestra los tubos de ensayo con el caldo de soya enriquecido y sin enriquecer.

Después de la incubación, las muestras de ambos tubos fueron inoculadas en medios de cultivo selectivos (EMB y SS) y se incubaron nuevamente 24 horas a 37°C.

Cuando se observó crecimiento bacteriano en los medios selectivos, se seleccionaron las colonias y se realizaron las pruebas bioquímicas siguientes:

Para *E. coli*:

MR-VR (Voges Proskauer-rojo de metilo), Citrato de Simmons.

Para *Salmonella* y *Shigella*:

Kligler, MIO (movilidad indol ornitina), LIA (agar hierro lisina).

Este procedimiento se repitió 4 veces cada tercer día, con el objeto de ver la viabilidad de las bacterias en el sustrato en función del tiempo.

### 5.3.5 Determinación de la presencia de las bacterias patógenas en el tracto digestivo de la lombriz.

Para comprobar la presencia de bacterias patógenas en el tracto digestivo de las lombrices se hizo un primer muestreo 48 horas después de la inoculación, consistente en extraer al azar dos lombrices de cada recipiente.

Los especímenes fueron lavados con agua estéril, se durmieron con cloroformo antes de fijarlos mediante alfileres sobre láminas de hielo seco previamente limpiadas con una solución de yodo. A continuación, cada lombriz fue diseccionada para extirpar las porciones anterior, media y posterior del tracto digestivo, según Vincelas-Akpa, Loquet (1996). En la figura 09 muestra el momento en el que se diseccionan las lombrices, todo en un ambiente controlado.

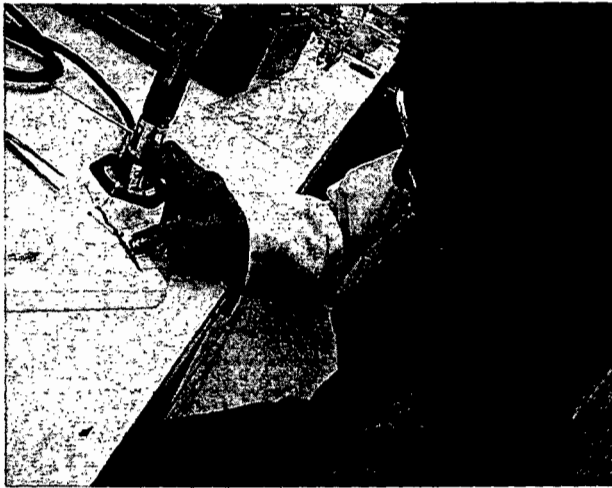


Figura 09: Se disecciona la lombriz para tomar las porciones anterior, medio y posterior.

Cada porción del tracto digestivo se pasó a caldo de soya (3 ml) en tubos de ensayo, por separado, y fueron incubadas a 37°C durante 4 y 24 horas, después de lo cual se inoculó en medio selectivo (EMB y SS), incubándose durante 24 horas. La figura 10, muestra el momento en el que las porciones son colocadas en el caldo soya.



Figura 10: Se toma la porción del tracto y se coloca en el tubo con caldo soya.

Las colonias típicas que crecieron en medio selectivo se seleccionaron para las pruebas bioquímicas indicadas anteriormente (MR-VR, Citrato de Simmons, Kligler, MIO, LIA).

El procedimiento se repitió durante cuatro días alternos, para un total de 24 lombrices por réplica.

#### 5.3.6 Detección de las bacterias patógenas en las excretas (casting).

Transcurridos los 10 días del experimento, las lombrices remanentes fueron separadas de sus respectivos sustratos y se lavaron con agua estéril, introduciéndolas en recipientes circulares con 90 gramos de lechuga desinfectada, donde fueron mantenidas durante 24 horas con el objetivo de recoger las excretas más recientes. En la figura 11 se observa cuando las excretas son tomadas e incubadas en caldo soya, después de todo el tratamiento.



Figura 11: Se toman las excretas, incubándose en caldo soya.

Las excretas así obtenidas fueron inoculadas en caldo de soya, e incubadas durante 4 y 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ ; después de la incubación, con el caldo se hicieron siembras en los medios selectivos señalados anteriormente, manteniéndolos en incubación a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Las colonias típicas se seleccionan para las pruebas bioquímicas como en los casos anteriores.



Esquema de trabajo.

Día

01	Siembra de lombrices e inoculación con bacterias				
02	Muestreo de sustrato	de Incubación en caldo de soya (4 h)	Incubación en medio selectivo (24 h)	Pruebas bioquímicas	
		de Incubación en caldo de soya (24 h)			
03	Disección de dos lombrices	Tracto Anterior	de Incubación en caldo de soya (4 h)	Incubación en medio selectivo (24 h)	Pruebas bioquímicas
			de Incubación en caldo de soya (24 h)		
		Tracto medio	de Incubación en caldo de soya (4 h)	Incubación en medio selectivo (24 h)	Pruebas bioquímicas
			de Incubación en caldo de soya (24 h)		
		Tracto posterior	de Incubación en caldo de soya (4 h)	Incubación en medio selectivo (24 h)	Pruebas bioquímicas
			de Incubación en caldo de soya (24 h)		
04	Muestreo de sustrato	Igual que en (2)			
05	Disección de dos lombrices	Igual que en (3)			
06	Muestreo de sustrato	Igual que en (2)			
07	Disección de dos lombrices	Igual que en (3)			
08	Muestreo de sustrato	Igual que en (2)			
09	Disección de dos lombrices	Igual que en (3)			
10	Transferencia de las lombrices a sustrato de lechuga				
11	Muestreo de excretas	Igual que en (2)			

## VI.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 6.1 Resultados de la selección del sustrato y alimento adecuados.

#### 6.1.1 Materiales utilizados.

De los sustratos utilizados el que acepto la lombriz o mejor dicho sobrevivió fue en el tejido de palma, ya que en los otros sustratos no sobrevivía, los mismos cambiaba su pH y la lombriz es muy susceptible a un pH muy ácido o muy alcalino, su umbral oscila entre un pH de 6 a 9, y el lugar donde permanecen (su casa) de preferencia tenía que tener un pH neutro o de 7.

En el caso del material utilizado como alimento el mejor aceptado por la lombriz fue la excreta de conejo, ya que al ser esterilizada y siendo dada a comer a las lombrices, estas no morían.

La lechuga se utilizó tanto al inicio del experimento para limpiar el tracto digestivo y al final para obtener las excretas de las lombrices.

#### 6.1.2. Resultados de la preparación de los materiales.

Los resultados obtenidos de los medio EMB y SS, que se aplicaron al material esterilizado fue positivo, es decir no hubo crecimiento bacteriano, el material sí estaba completamente estéril.

#### 6.1.3. Resultado de la inoculación y cultivo de la lombriz.

Las lombrices sobrevivieron al tratamiento que se les aplicó.

### 6.2. Resultados de la preparación y enriquecimiento de los cultivos bacterianos.

La concentración que se utilizó en el tratamiento con llevado al tubo No. 3 de Mac Farlan, concentración estándar con 900 millones de bacterias por mililitro.

### 6.3. Resultados de la determinación del potencial bactericida de la lombriz.

#### 6.3.1. Resultados del diseño experimental.

#### 6.3.2. Resultados del tratamiento previo a las lombrices.

Las lombrices estuvieron en lechuga 24 horas antes del tratamiento y si se les limpió el tracto digestivo, sobreviviendo todas las lombrices.

#### 6.3.3. Resultados de la siembra de las lombrices e inoculación de bacterias.

Se inocularon las lombrices en el sustrato/alimento adecuados, con las bacterias de interés, con resultados positivos.

#### 6.3.4. Resultados de la viabilidad de la bacteria en los sustratos.

Los resultados obtenidos de la viabilidad de las tres bacterias en el tejido de palma y excretas de conejo, fue siempre positivo, es decir estuvieron presentes las bacterias en todo el tiempo que duro el experimento. Las figuras 12,13 y 14, muestran el crecimiento de las colonias bacterianas de interés. Se respaldaron los resultados con pruebas bioquímicas. Las figuras 15, 16 y 17, se observa los resultados de las pruebas bioquímicas aplicadas a cada bacteria.

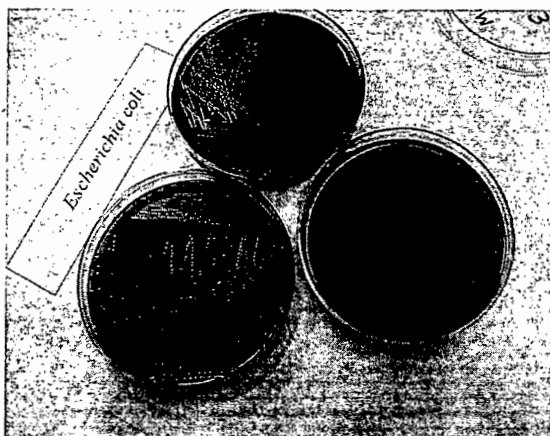


Figura 12.- Se muestra el crecimiento transcurrido 24 horas, de las colonias de E. coli en el medio de cultivo EMB, sobre sale el color metálico característico de esta bacteria se compara con el medio SS y un medio estéril.

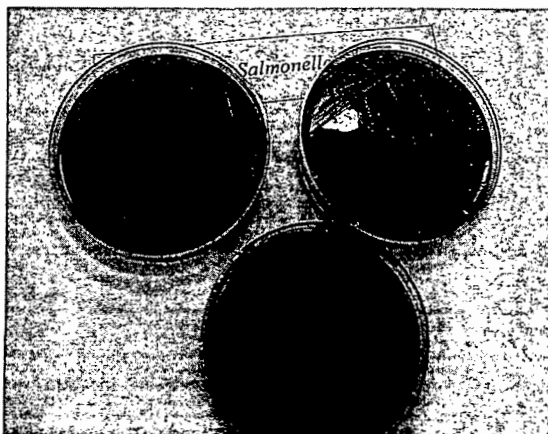


Figura 13.- Muestra el crecimiento de las colonias de la bacteria Salmonella transcurrido 24 horas, colonias plano convexas, de 1 a 2 mm, traslúcidas.

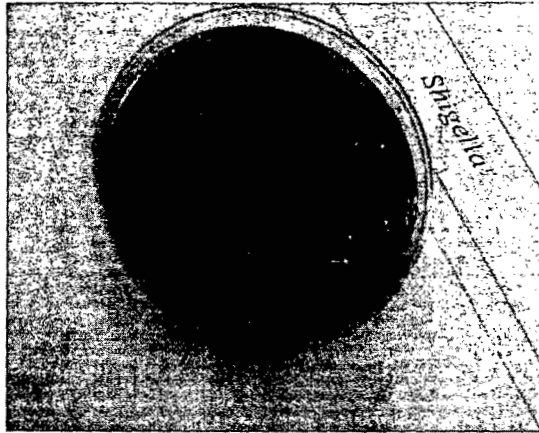


Figura 14.- Se observa el crecimiento de las colonias de Shigela, son gram negativas, traslúcidas y plano convexas.

Para *E. coli*:

MR-VR (Voges Proskauer-rojo de metilo), Citrato de Simmons.

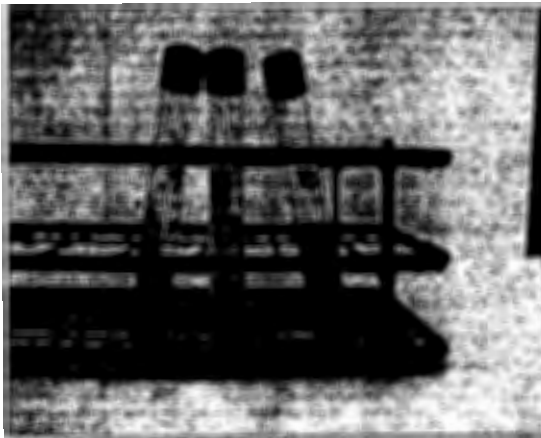


Figura 15.- Resultados de las prueba bioquímica de la bacteria, en la que se observa que el citrato es negativo (fuente exclusiva de carbono pero no para *E. coli*), producción de indol (trítófano) positivo, rojo de metilo (producción de ácido) positivo y Voges Proskauer (acetoina) negativo), reacciones que identifican a *E. coli*.



Para *Salmonella* y *Shigella*:

MIO (movilidad indol ornitina), LIA (agar hierro lisina) Kligler.

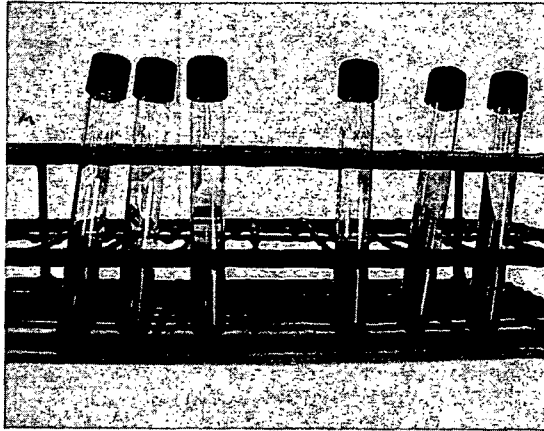


Figura 16.- Pruebas bioquímicas en la que se observa MIO (movilidad, indol, ornitina) turbidez, positivo para ornitina ya que no cambio su color, LIA (lisina) positivo ya que no cambio su color con  $H_2 S$ , Kligler lactosa negativo, glucosa negativo y  $H_2 S$  positivo. Resultados con la bacteria *Salmonella* Se compara con un medio estéril.

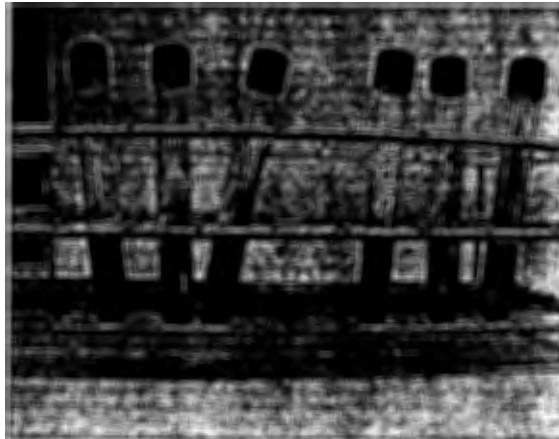


Figura 17.- Prueba bioquímica con la bacteria *Shigella*, MIO (movilidad, ornitina) para ornitina es negativo, LIA (lisina) negativo, Kligler lactosa positivo. Comparación con un medio de cultivo estéril.

6.3.5 Resultados de la presencia de las bacterias patógenas en el tracto digestivo de la lombriz.

En las tres porciones del tracto digestivo de la lombriz durante la incubación de 4 y 24 horas respectivamente, resultados que dividieron por días de cultivo 2, 4, 6, 8.

### 6.3.5.1 Resultados con la bacteria *E. coli*.

Como se puede observar en el cuadro 3.

Cuadro 3. Número de muestras positivas a la presencia de *E. Coli* en el tracto digestivo de la lombriz. <sup>(a)</sup>

Bacteria	Días de Cultivo	Horas de Incubación	Tracto Anterior	%	Tracto Medio	%	Tracto Posterior	%	TOTAL	%
<i>E. Coli</i>	2	4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>E. Coli</i>	4	4	2	22.2	2	22.2	2	22.2	6	66.7
<i>E. Coli</i>	6	4	1	11.1	1	11.1	1	11.1	3	33.3
<i>E. Coli</i>	8	4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>E. Coli</i>	2	24	3	33.3	2	22.2	3	33.3	8	88.9
<i>E. Coli</i>	4	24	3	33.3	2	22.2	3	33.3	8	88.9
<i>E. Coli</i>	6	24	3	33.3	3	33.3	2	22.2	8	88.9
<i>E. Coli</i>	8	24	3	33.3	1	11.1	1	11.1	5	55.6

(a) Para cada tiempo de incubación se utilizaron tres lombrices, de las cuales se extrajeron tres muestras: una por cada porción del tracto digestivo.

En el segundo día la incubación de 4 horas no se recupero nada en las tres porciones de tracto digestivo, pero en el transcurso de las 24 horas de incubación en la porción anterior y posterior se recupero el 33.3% y en la porción media el 22.2%.

En el cuarto día a 4 horas de haberse incubado se recupero el 22.2% en todas las porciones del tracto digestivo, y a las 24 horas de incubación en las porciones anterior y posterior se recupero el 33.3%, así en la porción del tracto medio se recupero el 22.2%.

En el sexto día en todas las porciones se recupero el 11.1% a las 4 horas, pero en la incubación de 24 horas las porciones anterior y medio aumento un 33.3% y la porción posterior 22.2%.

En el octavo día no se recupero la bacteria en la incubación a 4 horas, pero a las 24 horas de haberse incubado la porción anterior se presento 33.3%, y de la porción del tracto medio y posterior recupero 11.1%.

En el cuadro 1 se observa que *E. coli* no se presento en el día 8 de cultivo a las 4 horas, sin embargo se encontró a las 24 % en un mayor porcentaje en la parte anterior en relación al intestino medio y posterior.

En este mismo cuadro podremos observar que durante las 4 horas de incubación el porcentaje de *E. coli* encontrados durante los días de cultivo ( 2,4,6,8 ) fueron menores

que a las 24 horas. La figura 18 muestra los porcentajes obtenidos de la bacteria *E. coli* en las diferentes porciones del tracto digestivo en la incubación de 4 horas.

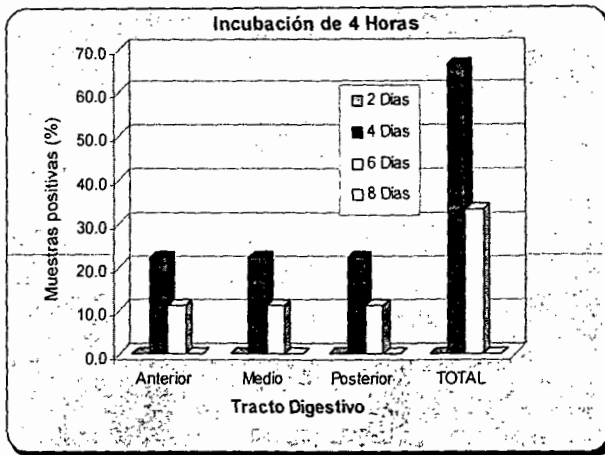


Figura 18.- Grafica de los resultados de la incubación de 4 horas del tracto digestivo.

Como se puede observar en los resultados obtenidos la bacteria no se recuperaba a las 4 horas pero a las 24 horas de haberse incubado si se recuperaba, lo que nos da a entender que la bacteria se encontraba presente en el tracto digestivo, los porcentajes que arroja son muy variados, ya que en algunas porciones se recupero la bacteria de las tres porciones del tracto digestivo, pero no el mismo porcentaje, es visible que de las porciones del tracto medio y posterior se recupero menos la bacteria, por lo que la parte tentativa que disminuye la carga bacteriana pueden ser estas dos porciones. Los porcentajes tan variados podría deberse a que la carga bacteriana era menos en las porciones que se recuperaron menos como fue en las porciones medio y posterior, por que o a que se debe que sea tan disparejo la presencia de la bacteria en las diferentes porciones del tracto digestivo, es probable que se deba al sistema digestivo de la lombriz de tierra. La figura 19, muestra los porcentajes obtenidos de la bacteria *E. coli* en la incubación de 24 horas del tracto digestivo.

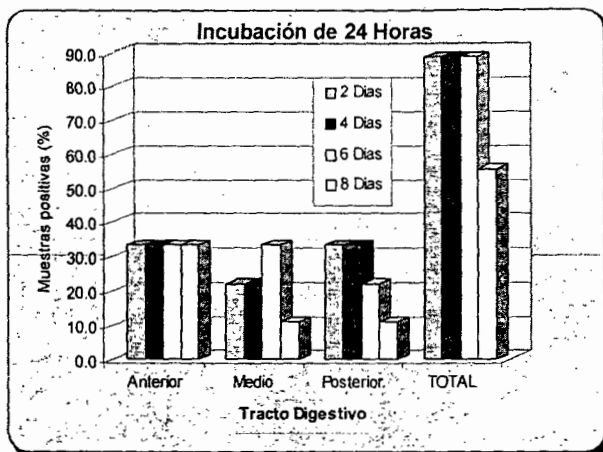


Figura 19.- Grafica de los resultados de la incubación de 24 horas del tracto digestivo.

### 6.3.5.2 Resultados con la bacteria *Salmonella enteritidis*.

En el cuadro 4 encontraras los porcentajes que se mencionan a continuación.

Cuadro 4. Número de muestras positivas a la presencia de *Salmonella* en el tracto digestivo de la lombriz. <sup>(a)</sup>

Bacteria	Días de Cultivo	Horas de Incubación	Tracto Anterior	%	Tracto Medio	%	Tracto Posterior	%	TOTAL	%
Salmonella	2	4	3	33.3	1	11.1	2	22.2	6	66.7
Salmonella	4	4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Salmonella	6	4	1	11.1	1	11.1	1	11.1	3	33.3
Salmonella	8	4	3	33.3	3	33.3	1	11.1	7	77.8
Salmonella	2	24	2	22.2	0	0.0	0	0.0	2	22.2
Salmonella	4	24	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Salmonella	6	24	1	11.1	0	0.0	0	0.0	1	11.1
Salmonella	8	24	1	11.1	0	0.0	0	0.0	1	11.1

(a) Para cada tiempo de incubación se utilizaron tres lombrices, de las cuales se extrajeron tres muestras: una por cada porción del tracto digestivo.

En el segundo día de cultivo en la porción anterior se recupero un 33.3%, pero disminuyo en la porción del tracto medio, recuperándose 11.1%, y en la porción posterior se recupero un 22.2%, sin embargo a las 24 horas de haberse incubado solamente se recupero la bacteria en la porción anterior un 22.2%.

En el cuarto día en la incubación de 4 y 24 horas no se recupero la bacteria en ninguna porción del tracto digestivo.

En el sexto día la bacteria se recupero en un 11.1% a las horas en todas las porciones del tracto digestivo, y en la incubación de 24 horas se recupero únicamente de la porción anterior un 11.1%.

En el octavo día, en la incubación de las 4 horas de las porciones anterior y medio se recupero la bacteria en un 33.3%, y en la porción posterior se recupero 11.1%. En la incubación de 24 horas se recupero solamente de la porción anterior un 11.1%, no encontrándose la bacteria en las porciones medio y posterior del tracto digestivo.

Como se observa en el cuadro 2, *S. enteritidis* se presenta en el tracto anterior tanto a las 4 y 24 horas.

Sin embargo en el tracto medio solamente estuvo presente a las 4 horas, teniendo el mismo comportamiento en el tracto posterior. La figura 20 muestra los porcentajes obtenidos de la incubación de 4 horas del tracto digestivo con la bacteria *S. enteritidis*.

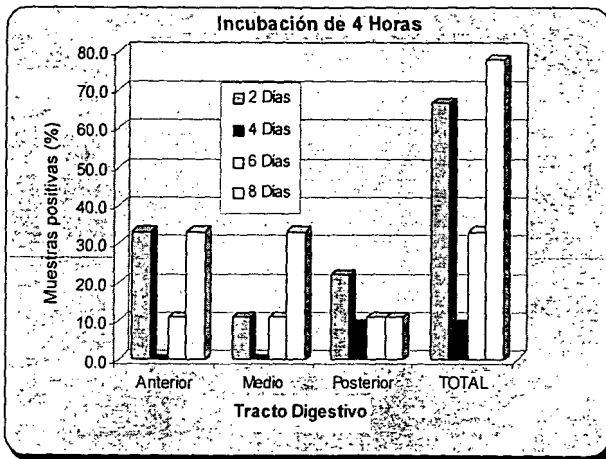


Figura 20.- Grafica de los resultados obtenidos en la incubación de 4 horas del tracto.

En este mismo cuadro podríamos ver que a las 4 horas de los días 2,6,8 fue positivo la presencia en todo el intestino, no así en el 4 día donde estuvo ausente.

A las 24 horas estuvo presente en todos los días de cultivo en la región anterior mas no en la región medio y posterior. La figura 21 presenta los porcentajes obtenidos de la incubación de 24 horas del tracto digestivo con la bacteria *S. enteritidis*.

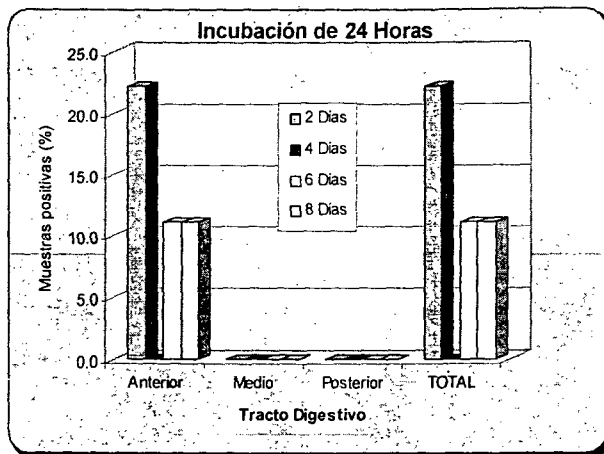


Figura 21.- Grafica que muestra los porcentajes de la incubación de 24 horas del tracto.

En general se observa que en a incubación de 4 horas se recupera la bacteria con porcentajes distintos en cada porción de tracto digestivo, contrario a lo que sucedió con *E. coli*, *S. enteritidis* al ser incubada 24 horas se recupero menos la bacteria e incluso no se recupero. En los resultados arrojados se observa que en las porciones del tracto digestivo medio y posterior se recuperaba menos la bacteria que en la porción anterior e incluso al incubarse 24 horas no se recuperaba la bacteria en estas porciones y de la porción anterior disminuía el porcentaje de recuperación de la bacteria transcurridas las 24 horas de incubación. Por lo que podemos decir que si bien no se elimina la bacteria en la porción anterior si disminuye en esta parte transcurridos 24 horas. Es posible que esta bacteria sea mas sensible que la *E. coli*.

### 6.3.5.3 Resultados obtenidos de la bacteria *Shigella flexneri*

Los porcentajes que a continuación se manejan se observa en el cuadro 5.

Cuadro 5. Número de muestras positivas a la presencia de *Shigella* en el tracto digestivo de la lombriz. <sup>(a)</sup>

Bacteria	Días de Cultivo	Horas de Incubación	Tracto Anterior	%	Tracto Medio	%	Tracto Posterior	%	TOTAL	%
Shigella	2	4	3	33.3	3	33.3	3	33.3	9	100.0
Shigella	4	4	2	22.2	3	33.3	2	22.2	7	77.8
Shigella	6	4	1	11.1	2	22.2	2	22.2	5	55.6
Shigella	8	4	2	22.2	0	0.0	0	0.0	2	22.2
Shigella	2	24	1	11.1	0	0.0	0	0.0	1	11.1
Shigella	4	24	0	0.0	1	11.1	0	0.0	1	11.1
Shigella	6	24	1	11.1	0	0.0	0	0.0	1	11.1
Shigella	8	24	0	0.0	1	11.1	0	0.0	1	11.1

(a) Para cada tiempo de incubación se utilizaron tres lombrices, de las cuales se extrajeron tres muestras: una por cada porción del tracto digestivo.

Segundo día en las tres porciones se recupero el 33.3% de la bacteria a las 4 horas, transcurrido las 24 horas se recupero, solamente en la porción anterior el 11.1%.

En el cuarto día en las porciones anterior y posterior a las 4 horas recupero la bacteria en un 22.2 %, y en la porción del tracto medio se recupero en un 33.3%, después de 24 horas se recupero la bacteria pero solo del tracto medio, en un 11.1%.

En el sexto día en la incubación de 4 horas se recupero en la porción anterior un 11.1%, y de las porciones medio y posterior recupere un 22.2%, a las 24 horas de incubación recupere de la porción anterior 11.1% de las otras porciones no hubo presencia de la bacteria.

Octavo día en la incubación de 4 horas se recupero únicamente en la porción anterior 22.2%, y en la incubación de 24 horas se recupero de la porción del tracto medio un 11.1%.

Podemos decir que la bacteria *S. flexneri* estuvo presente en las 3 regiones del intestino a las 4 horas en los días de cultivo 2,4,6, y en el día 8 solamente fue positivo en la región anterior. La figura 22 muestra los resultados de la incubación de 4 horas del tracto digestivo con la bacteria *S. flexneri*.

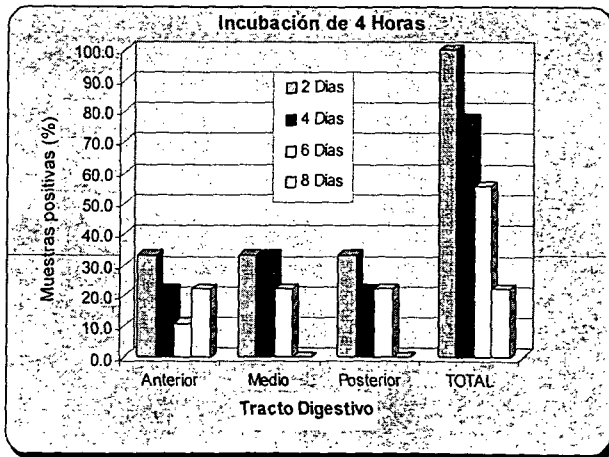


Figura 22.- Grafica que muestra los porcentajes de la incubación de 4 horas del tracto.

Alas 24 horas de incubación en comparación con las 4 horas, se ve claramente que hay disminución en todos los días y en las 3 regiones estando presente solamente en la región anterior en el segundo día, y en la región media los días 4 y 8 con un porcentaje de 11.1%. La figura 23 muestra los resultados obtenidos de la incubación de 24 horas del tracto digestivo con la bacteria *S. flexneri*.

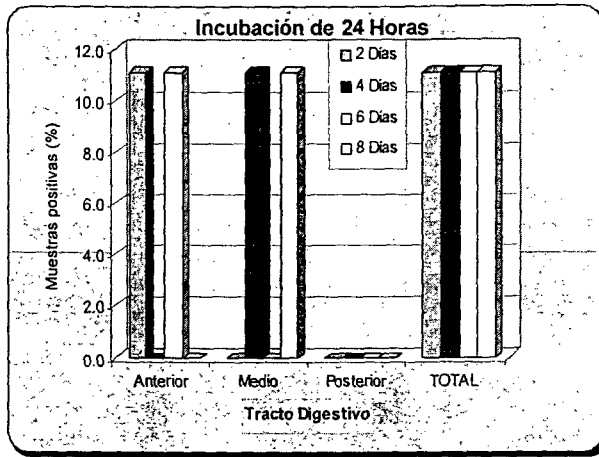


Figura 23.- Grafica que muestra los porcentajes de la incubación de 24 horas del tracto.

Los resultados arrojados en la incubación de 4 horas se observa que en las tres porciones del tracto digestivo se recupero la bacteria con porcentajes diferentes, de las porciones del tracto medio y posterior el porcentaje que se recupero fue mayor en la porción anterior, transcurrido las 24 horas se observa que casi solamente de la porción anterior se recupero la bacteria con excepción que en una ocasión; de la porción del tracto medio que en la incubación de 4 horas no se recupero la bacteria pero transcurrido 24 horas recupere la bacteria en 11.1

En el cuadro 6 podemos observar en el día 2 de cultivo, a las 4 horas de incubación E. coli no estuvo presente, sin embargo se presento a las 24 horas en todo el intestino entre el 22.2 y 33.3%.



Cuadro 6 Número de muestras positivas a la presencia de bacterias patógenas en el tracto digestivo de la lombriz. <sup>(a)</sup>

Días de Cultivo	Bacteria	Horas de Incubación	Tracto Anterior	%	Tracto Medio	%	Tracto Posterior	%	TOTAL	%
2	E. Coli	4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
2	Salmonella	4	3	33.3	1	11.1	2	22.2	6	66.7
2	Shigella	4	3	33.3	3	33.3	3	33.3	9	100.0
2	E. Coli	24	3	33.3	2	22.2	3	33.3	8	88.9
2	Salmonella	24	2	22.2	0	0.0	0	0.0	2	22.2
2	Shigella	24	1	11.1	0	0.0	0	0.0	1	11.1
4	E. Coli	4	2	22.2	2	22.2	2	22.2	6	66.7
4	Salmonella	4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
4	Shigella	4	2	22.2	3	33.3	2	22.2	7	77.8
4	E. Coli	24	3	33.3	2	22.2	3	33.3	8	88.9
4	Salmonella	24	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
4	Shigella	24	0	0.0	1	11.1	0	0.0	1	11.1
6	E. Coli	4	1	11.1	1	11.1	1	11.1	3	33.3
6	Salmonella	4	1	11.1	1	11.1	1	11.1	3	33.3
6	Shigella	4	1	11.1	2	22.2	2	22.2	5	55.6
6	E. Coli	24	3	33.3	3	33.3	2	22.2	8	88.9
6	Salmonella	24	1	11.1	0	0.0	0	0.0	1	11.1
6	Shigella	24	1	11.1	0	0.0	0	0.0	1	11.1
8	E. Coli	4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
8	Salmonella	4	3	33.3	3	33.3	1	11.1	7	77.8
8	Shigella	4	2	22.2	0	0.0	0	0.0	2	22.2
8	E. Coli	24	3	33.3	1	11.1	1	11.1	5	55.6
8	Salmonella	24	1	11.1	0	0.0	0	0.0	1	11.1
8	Shigella	24	0	0.0	1	11.1	0	0.0	1	11.1

(a) Para cada tiempo de incubación se utilizaron tres lombrices, de las cuales se extrajeron tres muestras: una por cada porción del tracto digestivo.

En relación a *S. enteritidis* y *S. flexneri* a las 4 horas del día 2 de cultivo, estuvieron presentes en todo el intestino y a las 24 horas solamente se presentó en la región anterior, con un 22.2% en *S. enteritidis* y un 11.1% en *S. flexneri*.

Este mismo cuadro nos muestra que en el día 4 de cultivo, a las 4 horas de incubación E. coli y S. flexneri fue positivo en las 3 regiones con un 22.2% con excepción de shigela en el tracto medio con un 33.3%, pero a las 24 horas de incubación desapareció tanto S. enteritidis como S. flexneri (excepto en el tracto medio con un 11.1% de shigela), quedando presente E. coli en todo el intestino.

En relación al día 6, con un 11.1% en todo el intestino estuvo presente E. coli y S. enteritidis, y S. flexneri con el 22.2% en la región media y posterior. Sin embargo a las 24 horas, E. coli sigue presente en todo el intestino y en S. enteritidis y S. flexneri solamente en la región anterior.

En el 8 día, E. coli no se presentó a las 4 horas de incubación, sin embargo a las 24 horas se hace presente al contrario de S. enteritidis y S. flexneri que estando presente a las 4 horas desaparece a excepción de la región anterior que disminuye de un 33.3 % a un 11.1% para S. enteritidis.

6.3.6. Resultados de la detección de las bacterias patógenas en las excretas. Resultados esquematizados en el cuadro 7.

Cuadro 7. Presencia de bacterias patógenas en las excretas.

Bacteria	incubación	Resultado	%
E. Coli	4	0	0.0
Salmonella	4	2	66.7
Shigella	4	0	0.0
E. Coli	24	3	100.0
Salmonella	24	0	0.0
Shigella	24	0	0.0

De las excretas recuperadas con cada bacteria, únicamente recupere después de haber incubado el caldo soya a las 4 horas, de la bacteria S. enteritidis en un 66.7%.

Con la bacteria E. coli se recupero a las 24 horas, en un 100%.

Como se puede observar surge la interrogante por que a las 4 horas no recupere la bacteria E. coli y en cambio a las 24 horas si recupere la bacteria.

## DISCUSION.

La excreta de conejo, se utilizo por su alto contenido de proteina, el autor Cesar E. y col. 1996, mencionan que en la excreta de conejo es los niveles de mortandad de las lombrices disminuyen. En cuanto al tejido de palma, no hay referencia literaria que se haya usado como sustrato/alimento, se utilizo para equilibrar la dieta de la lombriz.

Los medios de cultivo utilizados son los que se sugieren en la literatura, Berkeley R.

A pesar de que no existe referencia literaria del método que se utilizo en la tesis, los resultados de la inoculación y cultivo fueron positivos.

Al utilizar la concentracion de tubo No. 3 de Mac Farlan (900 millones de bacterias por ml.), se pretendia asegurar que la bacteria sobreviviera todo el tratamiento por lo que se puede observar que es una concentración alta, lo que pudo alterar mis resultados.

El diseño experimental fue adaptado por la directora, el asesor y la estudiante, no existe en concreto un diseño con respaldo literario.

El hecho que se haya utilizado la lechuga para que a lombriz excretara lo que anteriormente había comido, se utilizo como ensayo con resultados positivos, sin tener una referencia previa.

Las lombrices aceptaron el sustrato/alimento utilizados con las bacterias patógenas.

En cuanto a la bacteria *E. coli* recupero en el experimento todo el tiempo, lo hace pensa que no se elimino totalmente pero hay que cuantificar, ya que un estudio de Eastman Br., menciona que el vermicomposteo reducen coliformes fecales, reducción de salmonela spp, y de virus entéricos.

En las excretas se recupero la bacteria *Salmonella enteritidis* solamente de un recipiente, es probable que si sea eliminada la bacteria pero se necesita cuantificar la presencia o ausencia de la bacteria, ya que como lo menciona Rodríguez C. en su estudio en donde el nivel de concentración bacteriana del genero *Salmonella* y otras bacterias de la familia Enterobacteriaceae disminuye en presencia de la lombriz *E. foetida* en donde sugiere su disminución en la parte de la molleja e intestino anterior de la lombriz en mención. Asimismo Murry A., en su trabajo señala que en presencia de la lombriz *Eisenia foetida* la carga bacteriana de las excretas de caballo disminuyo en un 3% y en ausencia de la lombriz aumento en un 2%.

Se recupero de las excretas las bacterias salmonela y *E. coli*, no se eliminaron.

## VII.- CONCLUSIONES.

La excreta de conejo y el tejido de palma son ampliamente aceptados por la lombriz de tierra, ya que se están cubriendo su necesidades alimenticias.

Los medios de cultivo utilizado, con los requerimientos apropiados para el crecimiento de las bacterias en cuestión..

El diseño experimental falta pulir y adecuar más, para alcanzar los objetivos deseados.

La concentración bacteriana que se utilizo fue únicamente la del tubo No. 3 de Mac Farlan, sería interesante que se utilizaran menores concentraciones de las que utilice, observar su la concentración que utilice fue alta (900 millones por ml), lo que pudo haber alterado mis resultados.

La lechuga (sustrato/alimento) dio buenos resultados y posteriormente se podría utilizar en estudios a futuro.

Las bacterias utilizadas ampliamente sobrevivieron en el tejido de palma y el estiércol de conejo, lo que nos da la seguridad que las bacterias estuvieron presentes todo el tiempo.

Las bacterias sin bien no se eliminaron en su totalidad al menos, disminuye la recuperación de las colonias de bacterias ( sobre todo de la porción media y posterior), sería complementario a esta tesis si a futuro se hiciera un estudio para cuantificar las colonias recuperadas de las diferentes porciones del tracto digestivo.

En las excretas las bacterias que se recuperaron fue *Salmonella* y *E. coli*, no se eliminan en su totalidad, cabe hacer la aclaración que el presente estudio fue cualitativo, ya que existe poca literatura en torno a la capacidad de eliminar bacterias de las lombrices de tierra, por lo que se sugiere que se continúen los estudios referente a este tema.

## LITERATURA CITADA

Bellapart V.C. 1998. **Agricultura biológica en equilibrio con la agricultura química**. Ed. Aedes, Barcelona, España.

Benitez E., Elvira C., Gómez M., Gallardo-Lara F., Nogales R. 1996. **Leachates from a vermicomposting process**. Fertilizers and Environment. Kluwer Academic Publishers, pp 323-326. Prited in the Netherlands.

Berkeley R.C.W., Bock E., Boone R.D., Cross T., Colman G. 1994. **Bergey s Manual of determinative bacteriology**. Ed. William R. Hensyl. USA pp 179,186-187.

Butt K.R., Frederickson J., Morris R.M. 1994. **Effect of earthworm density on the growth and reproduction of *Lumbricus terrestris* L. (Oligochaeta: Lumbricidae) in culture**. Pedobiología 38 No. 3, pp. 254-261.

Carpenter L.P. 1997. **Microbiology**. Ed. W.B. Saunders Company. USA,pp 129, 401-404.

Cappuccino G., James, Sherman N. 1992. **Microbiology laboratory manual**. Ed. Benjamin Cummings Publishing Company. Inc. P 381.

Compagnoni L., Putzolu G. 1988 **Cría moderna de las lombrices y utilización rentable del humus**. Ed.de Vecchi. Barcelona.

Davis B.D., Dulbecco R., Eisen H.N.1994. **Microbiologia**. Ed. Panamericana.

Eastman Br., Kane P.N., Edwards C.A., Trytek L., Gunadi B., Stemer A.L., Mobley J. R. 2001. **The effectiveness of vermiculture in human pathogen reduction for USEPA biosolids stabilization**. Edit. Agriculture, Biology end Environmental Sciences.9(1) pp 38-49. USA.

Edwards C.A., Lofty J.R. 1977. **Biology of earthworms**. Ed. Richard Clay Group. Great Britain.

Elvira C., Domínguez J., Briones M.J.I.1995. **Composición de las comunidades de lombrices de tierra en un vertedero, un estercolero y un depósito de pasta residual**. Nova Acta Científica , Compostelana (Bioloxia), 6: 123-129. España.

Elvira c., Sampedro L., Mato S. 1995. **El vermicompostaje como alternativa para el reciclaje de lodos residuales derivados de la industria papelera** . Residuos, revista técnica. Año V, No. 25. Julio-Agosto. España.

Elvira C., Domínguez J., Briones J.L. 1996. **Growth and reproduction of *Eisenia andrei* and *E. fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) in different organic residues.** Pedobiología, 40, 377-384. Gustav Fischer Verlag Jena, España.

Elvira C., Domínguez J., Mato S. 1996. **The growth and reproduction of *Lumbricus rubellus* and *Dendrobaena rubida* in cow manure mixed cultures with *Eisenia andrei*.** Applied Soil Ecology, 5-97-103. Elsevier Science. B.V.

Elvira C., Goicoechea M., Sampedro L., Mato S., Nogales R. 1996. **Bioconversion of solid paper-pulp mill sludge by earthworms.** Bioresource Technology, 57-174-177. Elsevier Science. Printed in Great Britain.

Elvira C., Sampedro L., Domínguez J., Mato S. 1997. **Vermicomposting of wastewater sludge from paper-pulp industry with nitrogen rich materials.** Soil Biol. Biochem. Vol. 29, No. ¼-759-762. Elsevier Science. Printed in Great Britain.

Elvira C., Sampedro L., Benitez E., Nogales R. 1998. **Vermicomposting the sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: a pilot scale study.** Bioresource Technology. 63,205-211. Elsevier Science. Printed in Great Britain.

Ferruzzi C. 1994. **Manual de lombricultura.** Ed.Mundi-empresa, Madrid.

Font Q.P. 1978. **Botánica pintoresca.** Ed.Ramón Sopena S.A. Barcelona, España.

Frederickson J., Butt R.K., Morris M.R. y Daniel C. 1997. **Combining vermiculture with traditional green waste composting systems.** Soil Biol. Biochem. Vol. 29, No. ¼, pp 725-730. Elsevier Science. Printed in Great Britain.

Fregoso C, Brown G.G., Patron J.C., Lavelle P.,etc. 1997. **Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of earthworms.** Elsevier Science.

Fregoso C, Lavelle P. 1992. **Earthworm communities of tropical rain forests.** Soil Biol. Biochem. Vol. 254. No. 12, pp 1397-1408. Prited in Great Britain.

Giono S., Escobar A., Valdespino J.L. 1994. **Instituto Nacional de Diagnostico y Referencia Epidemiologicos.** INDRE, SSA, México.

Gratelly P., Benitez E., Elvira C., Polo A.-, Nogales R. 1996. **Stabilization of sludges from a dairy processing plant using vermicomposting.** Fertilizers and Environment, 341-343. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

Jambheka H. 1995. **Vermiculture,** International AG-SIEVE Vol. 7 No. 1.

Koneman E.W. 1989. **Diagnóstico microbiológico.** Ed.Panamericana. Buenos Aires. Pp. 386-392.

- Kreuter M.L. 1994. **Jardín y huerto biológicos**. Ed.Mundi-prensa, Madrid, España.
- Kristufek V., Ravasz K., Pizl V. 1992. **Changes in densities of bacteria and microfungi during gut transit in *Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa*** (Oligochaeta: Lumbricidae).
- Lavelle P., Barois I., Martin A., Zaidiz, Schaefer R. 1989. **Management of earthworm populations in agro-ecosystems: A possible way to maintain soil quality?. Ecology of arable land**. 109-122. Kluwer Academic Publishers.
- Murry, A.C Jr., Hinckley L.S., 1992. **Effect of the earthworm *Eisenia foetida* on *Salmonella enteritidis* in horse manure**. Bioresource Technology 41(2). Pp 97-100  
Printed in USA.
- Rashed H.A., Szabo I.M., Dozs-Farkas K. 1992. **On the composition of the intestinal microbita of *Fridericia hegemon* (Enchytraeidae)**. Soil Biol Biochem. Vol. 24 No. 12 pp 1291-1294. Printed in Great Britain.
- Rodriguez c., Beoletto V., Einola M. 1996. **Bacteriology of poultry litter, compost and the earthworm *Eisenia foetida* (Oligochaeta, Lumbricidae)**. Megadrilogica 6(9-10). Pp 91-95. Printed in Argentina.
- Toyota K., Kimura M. 2000. **Microbial community indigenous to the earthworm *Eisenia foetida*. Biology and Fertility of Soil**. 31(3-4): 187-190. New York, USA.
- Viljoen S.A., Reinecke A.J. 1992. **The temperature requirements of the epigeic earthworm species *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta) a laboratory study**. Soil Biol. Biochem. Vol. 24, No. 12, 1345-1350. Printed in Great Britain.
- Vinceslas-Akpa M., Loquet M. 1995. **Observation in situ de la microflore Lieé au tube digestif de *Eisenia fetida andrei*. (Lumbricidae)**. Eur. J. Soil Biol. 3 (2) 101-110. Paris.
- Vinceslas-Akpa M., Loquet M. 1996. **Contribución à l'origine des activités cellulaisiques du tube digestif du lombricien *Eisenia fetida andrei***. Biologie et pathologie animales. 319, 1113-7. Sciences de la Vie. Paris.
- Vinceslas-Akpa M., Loquet M. 1997. **Organic matter transformations in lignocellulosic waste products composted or vermicomposted (*Eisenia fetida andrei*): Chemical analysis and <sup>13</sup>C CPMAS NMR Spectroscopy**. Soil Biol. Biochem. Vol. 29 No. ¾, 751-758. Elsevier Science. Printed in Great Britain.