

COMUNICACIÓN CORTA

SOBREVIVENCIA DE LAS FASES PREPARASÍTICAS DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN BOCASHI ELABORADO CON ESTIÉRCOL VACUNO¹

Martha Orozco-Aceves², Jorge Hernández-Gamboa³, Ana Eugenia Jiménez-Rocha³

RESUMEN

Sobrevivencia de las fases preparásiticas de nematodos gastrointestinales en bocashi elaborado con estiércol vacuno. El objetivo del presente trabajo fue determinar la sobrevivencia de las fases preparásiticas (huevos y larvas) de nematodos gastrointestinales (NG) en bocashi elaborado con estiércol vacuno. La investigación se realizó en la Universidad Nacional de Costa Rica en el año 2010. Abono orgánico tipo bocashi fue elaborado utilizando estiércol vacuno procedente de una finca lechera localizada en Poasito de Alajuela, Costa Rica. El estiércol contenía 600 huevos por gramo de heces (hpg) de los NG de la suborden Strongylida, < 50 hpg de *Strongyloides papillosus* y < 50 hpg de *Trichuris* spp. Cuando el bocashi estuvo elaborado, veinte muestras fueron tomadas aleatoriamente y procesadas mediante el método cualitativo de Sheater y el cuantitativo de McMaster para determinar la presencia de huevos de NG y contabilizarlos. Adicionalmente, se montaron coprocultivos y se extrajeron los nematodos totales para determinar la presencia de larvas de NG. En el bocashi las cantidades de huevos de NG fueron bajas y no fue posible la cuantificación por el método estándar de McMaster. En todos los casos los huevos mostraron signos de degradación. Ninguna larva de NG fue observada en los coprocultivos ni en la extracción de nematodos totales. El bocashi contenía un alto número de nematodos bacteriófagos, cuya presencia es positiva. Las condiciones de elaboración del bocashi lograron disminuir las poblaciones de fases preparásiticas de NG y favorecieron la proliferación de organismos benéficos.

Palabras clave: abonos orgánicos, inocuidad, parásitos de animales, Strongylida, nematodos bacteriófagos.

ABSTRACT

Survival of pre-parasitic stages of gastrointestinal nematodes in Bocashi made from cattle manure. The aim of this study was to determine the survival of pre-parasitic stages (eggs and larvae) of gastrointestinal nematodes (GN) in Bocashi made from cattle manure. The study was conducted at the facilities of the National University of Costa Rica (UNA) during 2010. Bocashi was made from cattle manure collected from a dairy farm located in Poasito de Alajuela, Costa Rica. Cattle manure contained 600 eggs from the Strongyloida suborder per gram (epg), specifically < 50 epg from *Strongyloides papillosus*, and < 50 epg from *Trichuris* spp. Approximately 20 random samples were taken from finished Bocashi and processed using the qualitative method of Sheater and the quantitative method of McMaster in order to identify and quantify eggs from GNs. Additionally, coprocultures were performed and total nematodes were extracted from Bocashi samples to determine the presence of GN larvae. Eggs from GNs were observed in Bocashi samples at very low concentrations, so quantification by the standard parasitological method was not possible. In all cases the eggs showed signs of degradation. No larvae from GNs were observed in coprocultures or in the total nematode extraction. In contrast, large numbers of bacterial-feeding nematodes were observed in Bocashi samples, whose presence is considered positive. We conclude that the conditions present during the preparation process of Bocashi substantially reduce the number of GNs at pre-parasitic stages and promote an increase in the number of beneficial organisms.

Keywords: organic fertilizers, food safety, animal parasites, Strongylids, bacterial-feeding nematodes.

¹ Recibido: 13 agosto, 2014. Aceptado: 23 de setiembre, 2014. Este trabajo fue parte de un proyecto de investigación en el marco de la Maestría en Agricultura Alternativa con mención en Agricultura Ecológica, impartida en la Universidad Nacional de Costa Rica, Costa Rica.

² Universidad Nacional de Costa Rica, Maestría en Agricultura Alternativa con mención en Agricultura Ecológica. Apartado postal 86-3000, Heredia, Costa Rica. Tel. (506) 277 34 83. marthaoa2001@yahoo.com.mx

³ Universidad Nacional de Costa Rica, Escuela de Medicina Veterinaria, Laboratorio de Parasitología. Lagunilla, Barreal de Heredia, de la estación RTV de Heredia 800 m este y 1,2 km norte. Costa Rica. jorge.hernandez.gamboa@una.cr, ana.jimenez.rocha@una.cr



INTRODUCCIÓN

Los abonos orgánicos constituyen excelentes mejoradores de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, por lo que su uso en agricultura es ampliamente recomendado (Soto y Meléndez, 2004; Méndez y Viteri, 2007; Ramírez-Builes y Duque, 2010). Sin embargo, algunas materias primas para la elaboración de estos abonos, por ejemplo los estiércoles de origen animal, son fuente potencial de organismos patógenos, entre los cuales se pueden mencionar los nematodos gastrointestinales (NG), los cuales pueden afectar negativamente la salud humana al ser ingeridos a través de alimentos (Soto y Meléndez, 2004; Venglovsky et al., 2006).

Abonos orgánicos elaborados con estiércoles de animales como el compost, presentan concentraciones bajas de NG (Heinonen-Tanski et al., 2006; Venglovsky et al., 2006), debido a que las temperaturas registradas durante el proceso de compostaje, entre 65-70 °C hasta por tres meses, disminuyen significativamente las poblaciones de estos organismos (Soto, 2003). Sin embargo, desde hace algunos años en Centro y Sudamérica se ha popularizado el uso de abonos orgánicos tipo bocashi a base de estiércoles animales (Restrepo, 2001; Soto y Meléndez, 2004; Méndez y Viteri, 2007; Ramírez-Builes y Duque, 2010), cuya elaboración implica temperaturas más bajas (45-55 °C) y tiempos más cortos (una a dos semanas) con respecto al compostaje (Restrepo, 1998; Meléndez, 2003; Soto, 2003). En este escenario, existe la interrogante de si las condiciones de elaboración del bocashi son las necesarias para disminuir/eliminar las fases preparásiticas, huevos y larvas de NG.

Los NG presentan una alta prevalencia en sistemas de producción animal sobre todo en zonas tropicales, siendo *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp. y *Oesophagostomum* spp. los géneros más problemáticos (Banks et al., 1990; FAO, 2003; Vázquez et al., 2004; Iqbal et al., 2005; Oliveira et al., 2009; Flota-Bañuelos et al., 2013). El problema se agrava cuando el manejo sanitario del hato es deficiente debido a la alta fecundidad de los NG, por ejemplo, una hembra de *Haemonchus contortus* es capaz de producir hasta 10 000 huevos por día (Gibbons, 2012). Bajo estas condiciones, existe la probabilidad de que el estiércol usado en la elaboración de bocashi contenga

huevos de NG en altas cantidades, lo que incrementa el riesgo de contaminación de alimentos.

Por otro lado, las fases preparásiticas de NG han desarrollado estrategias de sobrevivencia que las hacen resistentes a condiciones ambientales desfavorables. Por ejemplo, la cubierta de los huevos presenta una estructura y composición química tal, que le confiere a la larva un alto grado de protección contra la desecación, protección mecánica y química (Bird, 2012; Perry, 2012; Wharton, 2012). Una vez en el ambiente, los estadios larvarios de algunos NG pueden ser resistentes a condiciones desfavorables como desecación y bajas temperaturas (Wharton, 2012). Debido a la alta prevalencia y a las estrategias de sobrevivencia desarrolladas por las fases preparásiticas de los NG, existe la probabilidad de que las condiciones de elaboración del abono tipo bocashi no sean las adecuadas para su disminución/eliminación. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar la sobrevivencia de las fases preparásiticas de nematodos gastrointestinales (huevos y larvas) en bocashi elaborado con estiércol vacuno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estiércol

Para la elaboración del bocashi se utilizó estiércol vacuno proveniente de una finca lechera localizada en Poasito de Alajuela, Costa Rica. El ganado lechero era de la raza Jersey de edad variable, su alimentación consistió en pasto de corta king grass (*Pennisetum purpureum*), concentrado comercial, melaza, minerales y sal. El estiércol recolectado contenía huevos de NG en las siguientes concentraciones: 600 huevos por gramo de heces (hpg) de Strongylida, < 50 hpg de *Strongyloides papillosus* y < 50 hpg de *Trichuris* spp. El estiércol fue tomado directamente del recto de los animales para evitar su contaminación con nematodos de vida libre presentes en el suelo. El análisis coproparasitológico para determinar la concentración inicial de huevos de NG en el estiércol vacuno, se realizó por medio de los métodos estándar: cualitativo de Sheater y cuantitativo de McMaster (Hernández, 2001). Estos análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de

Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional y Laboratorio de Nematología de la Escuela de Ciencias Agrarias de la misma universidad.

Elaboración del bocashi

Para la elaboración del bocashi se siguió la receta estándar descrita por Restrepo (2001). En un contenedor con capacidad de 200 l se colocaron varias capas de los siguientes materiales en el orden en que son mencionados: granza de arroz, suelo, estiércol vacuno, carbón molido y melaza diluida en agua, posteriormente todos los materiales se mezclaron homogéneamente. La humedad se verificó mediante la prueba del puño, la cual consiste en tomar una porción de la mezcla con la mano y cerrar el puño presionando, si no escurre agua y queda una masa compacta, la humedad es adecuada (Restrepo, 2001). En la mezcla final, el estiércol se diluyó con los demás ingredientes y por consiguiente, la concentración de huevos disminuyó. En la mezcla, las concentraciones de huevos de NG fueron las siguientes: 200 hpg de *Strongylida*, y < 50 tanto de *S. Papillosus* y de *Trichuris* spp. La temperatura de la mezcla se monitoreó diariamente, según la receta original esta no debe exceder los 50 °C, por lo que la mezcla se “volteó” dos veces al día para enfriarla. El final del proceso estuvo determinado por el descenso de la temperatura a los quince días.

Análisis parasitológico de bocashi

Cuando el bocashi estuvo elaborado, se tomaron aleatoriamente veinte muestras de diferentes puntos y profundidades del abono. En cada una de estas muestras se cuantificó el número de huevos de NG por medio de los métodos cualitativo de Sheater y cuantitativo de McMaster. Adicionalmente, se establecieron coprocultivos con cada una de las muestras (Hernández, 2001) para observar la presencia de larvas de NG y verificar si los huevos observados mediante los métodos mencionados anteriormente eran viables; es decir, si las larvas habían sido capaces de eclosionar. Finalmente, se realizó la extracción de nematodos totales del bocashi mediante la técnica de flotación en solución de azúcar y cribado (Hooper et al., 2005). Posterior a la extracción, algunos ejemplares de nematodos fueron colocados en el microscopio óptico

para observar sus características y determinar si se trataba de larvas de NG o algún otro tipo de nematodo (fitoparásitos, de vida libre) de acuerdo a los criterios de Yeates et al. (1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis cualitativo de las muestras de bocashi reveló que el 35% de las muestras (7/20) contenían al menos un huevo de *Strongylida*, 35% de las muestras (7/20) contenían al menos un huevo de *S. papillosus* y 15% de las muestras (3/20) contenían al menos un huevo de *Trichuris* spp. Sin embargo, en todos los casos los huevos observados mostraron algún signo de degradación, por ejemplo pérdida de la integridad de su cubierta. Sin embargo, la cantidad de huevos de NG en el bocashi fue tan baja que no pudieron ser contabilizados por el método de McMaster, el cual no fue lo suficientemente sensible para detectarlos. En los coprocultivos del bocashi no se observaron larvas de NG, únicamente formas vermiformes de nematodos de vida libre. Este resultado fue corroborado por la extracción de nematodos totales, donde se observaron exclusivamente formas vermiformes de nematodos de vida libre, específicamente nematodos bacteriófagos en una concentración de cuarenta nematodos/gramo de bocashi.

De acuerdo con los resultados anteriores, se puede establecer que las condiciones de elaboración del abono fueron adecuadas para reducir substancialmente el número de huevos y larvas de NG. Sin embargo, es recomendable utilizar un método cuantitativo más sensible para determinar si el bocashi cumple con el criterio de inocuidad de la US Environmental Protection Agency (EPA) de < 1 huevo viable de helminto por gramo de abono orgánico (Soto y Meléndez, 2004; Fortis-Hernández et al., 2007).

En el bocashi terminado se encontraron nematodos bacteriófagos en altas cantidades, lo que resulta beneficioso debido a los efectos positivos de estos organismos en el suelo y en la nutrición vegetal (Freckman, 1988). La presencia de nematodos bacteriófagos en el bocashi es consecuencia del aumento de la biomasa bacteriana durante el proceso de descomposición de los materiales orgánicos (Moore y Hunt, 1988; Adl, 2003; Lavelle y Spain, 2003; Coleman et al., 2004). Debido a que el estiércol utilizado para

la elaboración del bocashi fue tomado directamente del recto de los animales, es probable que la fuente de inóculo de los nematodos bacteriófagos haya sido algún otro de los materiales empleados, muy probablemente el suelo, en el cual las poblaciones de estos organismos son altas (Yeates, 2003; Yeates et al., 2009).

Las condiciones en las que se elaboró el bocashi en el presente trabajo, lograron disminuir la cantidad de fases preparasíticas de NG que estaban presentes en el estiércol utilizado como materia prima. Por otro lado, el proceso de elaboración de este abono orgánico, promovió el incremento de las poblaciones de organismos benéficos como los nematodos bacteriófagos, cuya presencia es deseable en los suelos agrícolas.

LITERATURA CITADA

- Adl, S.M. 2003. The ecology of soil decomposition. CABI Publishing, UK.
- Banks, D.J.D., R. Singh, I.A. Barger, B. Pratap, y L.F. LeJambre. 1990. Development and survival of infective larvae of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* on pasture in a tropical environment. *Int. J. Parasitol.* 20:155-160.
- Bird, A.F. 2012. The structure of nematodes. Academic Press, USA.
- Coleman, D.A., D.A. Crossley, y P.F. Hendrix. 2004. Fundamentals of soil ecology 2nd ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2003. Resistencia a los antiparasitarios. Dirección de Producción y Sanidad Animal de la FAO, Roma, Italia.
- Flota-Bañuelos, C., M.I. Martínez, J. López-Collado, M.M. Vargas, H.H. González, y P. Fajersson. 2013. Patrón espacio-temporal de larvas y huevecillos de nemátodos gastrointestinales en pastizales ganaderos de Veracruz, México. *Rev. Biol. Trop.* 61:1747-1758.
- Fortis-Hernández, M., E. Salazar-Sosa, I. Orona-Castillo, J.A. Léos-Rodríguez, J.C. Rodríguez-Ríos, L. García-Galindo, J.A. Montemayor-Trejo, y J.A. Chavarría-Galicia. 2007. Normas de aplicación de estiércol bovino al suelo. En: S.E. Salazar et al., editores, Uso y aprovechamiento de abonos orgánicos e inocuidad. Facultad de Agricultura y Zootecnia de la UJED, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, COCyTED, México. 600 p.
- Freckman, W.D. 1988. Bacterivorous nematodes and organic matter decomposition. *Agric. Ecosyst. Environ.* 24:195-217.
- Gibbons, L.M., 2012. General organisation. En: D.L. Lee, editor, The biology of nematodes. Taylor y Francis, UK. 1286 p.
- Heinonen-Tanski, H., M. Mohaibes, P. Karinen, y J. Koivunen. 2006. Methods to reduce pathogen microorganisms in manure. *Livest. Sci.* 102:248-255.
- Hernández, G.J., compilador. 2001. Técnicas coproparasitológicas. Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional, Costa Rica.
- Hooper, D.J., J. Hallmann, y A. Subbotin. 2005. Methods for extraction, processing and detection of plant and soil nematodes. En: M. Luc, R.A. Sikora, y J. Bridge, editores, Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 2nd ed. CAB Publishing, UK. 871 p.
- Iqbal, Z., M. Lateef, M.N. Khan, G. Muhammad, y A. Jabbar. 2005. Temporal density of trichostrongylid larvae on a communal pasture in a sub-tropical region of Pakistan. *Pak. Vet. J.* 25:87-91.
- Lavelle, P., y A.V. Spain. 2003. Soil ecology. Kluwer Academic Publishers, USA.
- Meléndez, G. 2003. Abonos orgánicos: principios, aplicaciones e impacto en la agricultura. UCR, CIA, CATIE. San José, Costa Rica.
- Méndez, M.J., y S.E. Viteri. 2007. Alternativas de biofertilización para la producción sostenible de cebolla de bulbo (*Allium cepa*) en Cucaita, Boyacá. *Agron. Colomb.* 25(1):168-175.
- Moore, J.C., y H.W. Hunt. 1988. Resource compartmentation and the stability of real ecosystems. *Nature* 33:261-263.
- Oliveira, A.L.F., C. Costa, R.A. Rodella, B.F. Silva, y A.F.T. Amarante. 2009. Effect of plant trichomes on the vertical migration of *Haemonchus contortus* infective larvae on five tropical forages. *Trop. Anim. Health Prod.* 41:775-782.
- Perry, R.N. 2012. Hatching. En: D.L. Lee, editor, The biology of nematodes. Taylor y Francis, UK. 1286 p.
- Ramírez-Builes, V.H., y N.N. Duque. 2010. Respuesta del lulo La Selva (*Solanum quitoense* x *Solanum hirtum*) a la aplicación de fermentados aeróbicos tipo bocashi y fertilizante químico. *Acta Agron.* 59:155-161.
- Restrepo, J. 1998. La idea y el arte de fabricar los abonos orgánicos fermentados: una experiencia de agricultores en Centroamérica y Brasil. Colección Agricultura orgánica para principiantes. Editorial SIMAS, Managua, Nicaragua.

- Restrepo, J. 2001. Elaboración de abonos orgánicos fermentados y biofertilizantes foliares: experiencias con agricultores en Mesoamérica y Brasil. IICA, San José, Costa Rica.
- Soto, G., 2003. Abonos orgánicos: definiciones y procesos. En: G. Meléndez, G. Soto, y L. Uribe, editores, Abonos orgánicos: principios, características e impacto en la agricultura. Costa Rica, CATIE, UCR. p. 20-49.
- Soto, G., y G. Meléndez. 2004. ¿Cómo medir la calidad de los abonos orgánicos? Manejo integrado de plagas y agroecología. No. 72. CATIE, USDA, ASDI, Costa Rica.
- Vázquez, P.V.M., C.J. Flores, V.C. Santiago, R.D. Herrera, F.A. Palacios, H.E. Liébano, y O.A. Pelcastre. 2004. Frecuencia de nematodos gastroentéricos en bovinos de tres áreas de clima subtropical húmedo de México. *Téc. Pec. Méx.* 42:237-245.
- Venglovsky, J., J. Martinez, y I. Placha. 2006. Hygienic and ecological risks connected with utilization of animal manures and biosolids in agriculture. *Livestock Science* 102:197-203.
- Wharton, D.A. 2012. Nematode survival strategies. En: D.L. Lee, editor, *The biology of nematodes*. Taylor y Francis, UK. 1286 p.
- Yeates, G.W., T. Bongers, R.G. M. de Goede, D.W. Freckman, y S.S. Georgieva. 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera – An outline for soil ecologists. *J. Nematol.* 25:315-331.
- Yeates, G.W. 2003. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects. *Biol. Fert. Soils* 37:199-210.
- Yeates, G.W., H. Ferris, T. Moens, y W.H. van der Putten. 2009. The role of nematodes in ecosystems. En: M.J. Wilson, T. Kakouli-Duarte, editors, *Nematodes as environmental indicators*. CABI, UK. p. 8-12.

