

Índice de humificación y prueba de fitotoxicidad en residuos orgánicos de uso agrícola potencial

Y. Acosta¹, J. Paolini², E. Benítez³

¹Laboratorio de Investigaciones y Servicios Ambientales. Núcleo de La Universidad del Zulia (LUZ) en Punto Fijo.

²Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. (IVIC).

³Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Granada. España.

Resumen

La materia orgánica no humificada en residuos orgánicos potencialmente agrícolas, puede producir fitotoxicidad en las plantas. A fin de estimar el nivel de estabilidad de la materia orgánica se determinaron índice, grado y tasa de humificación en lodo residual producto del tratamiento de aguas servidas, estiércol de chivo y residuo del procesamiento industrial de sábila (*Aloe vera*). El método se basó en la extracción y fraccionamiento de sustancias húmicas empleando una columna de polivinilpirrolidona insoluble. El lodo y el estiércol resultaron ser materiales más humificados, con índices de humificación de 0,32 y 0,36 (< 1), respectivamente; concluyéndose que ambos residuos orgánicos son adecuados para uso agrícola, debido a su materia orgánica más estabilizada y al mayor contenido de nutrientes, en relación al residuo vegetal. La prueba de germinación para evaluar la fitotoxicidad por sustancias orgánicas, incubando semillas de *Lepidium sativum* en el extracto acuoso, resultó en un índice de germinación de 67 % para el residuo de sábila; indicando que éste constituye un medio más favorable para la germinación, en relación al estiércol y al lodo (57,9 y 53,2 %). La prueba de fitotoxicidad no guardó relación con la estabilidad de la materia orgánica, indicada por el índice de humificación.

Palabras clave: residuo orgánico, sustancias húmicas, índice de humificación, fitotoxicidad.

Introducción

En la aplicación de los residuos orgánicos y/o sus composts, un factor importante que puede originar fitotoxicidad es el grado de inmadurez de las composts o la aplicación de los

residuos frescos. Los residuos orgánicos inmaduros pueden acumular ácidos orgánicos de bajo peso molecular y otros metabolitos orgánicos que son sustancias fitotóxicas (12). Los ácidos

alifáticos de cadena corta (ácidos grasos de bajo peso molecular y ácidos grasos volátiles) tales como el ácido acético y varios compuestos fenólicos producidos durante la descomposición activa de los compuestos orgánicos, suprimen la germinación de las semillas, la proliferación de las raíces y el rendimiento de los cultivos. El consenso parece ser que en lugar de un único compuesto, combinaciones de varios compuestos son las responsables de esta toxicidad (20, 34, 36).

Por otra parte, es conveniente considerar que los residuos inmaduros contienen o generan amonio. El amonio se encontraría presente en el suelo en cantidades mayores que trazas ($0,1 \text{ mg N g}^{-1}$), lo cual puede dañar las raíces de las plantas. Los residuos inmaduros aplicados al suelo tienden a tener una amplia relación C/N; debido a que su descomposición activa, la cual continúa en el suelo, inmoviliza N, suprimiendo el suministro de compuestos de nitrógeno que son nutrientes para los cultivos. La continua descomposición en el suelo de residuos inmaduros, tiende a agotar el oxígeno en el aire del suelo, entorpeciendo la respiración de las raíces y conduciendo a la producción de sulfuro de hidrógeno (H_2S) y nitrito (NO_2^-) por la transformación anaeróbica de los compuestos de azufre y la nitrificación incompleta del amonio (18).

La mayoría de las veces, la presencia de sustancias tóxicas de la

materia orgánica descompuesta no representa un estado permanente. Las toxinas son producidas solamente en ciertos estados de descomposición y tienden a ser rápidamente desactivadas. Por tanto, la sensibilidad de la planta a las toxinas tiende a ser una condición transitoria. La toxicidad es usualmente definida como el efecto de algún veneno sobre un organismo vivo (2, 25); sin embargo, referente al concepto de fitotoxicidad derivado de la materia orgánica hacia la planta, Zucconi *et al.* (34) opinan que éste necesita ser entendido en un sentido amplio y dinámico, debido a que existe un número indefinido de sustancias que actúan o trabajan juntas, aunque combinadas diferentemente en cada caso específico.

Bajo condiciones adversas, las plantas exhiben con frecuencia estrés, razón por la cual resultan útiles al momento de evaluar la toxicidad (33). El objetivo general del presente estudio consiste en evaluar bioquímica y agrobiológicamente, mediante el fraccionamiento de la materia orgánica y la prueba de fototoxicidad, a tres residuos orgánicos: lodo residual, estiércol de chivo y residuo del procesamiento de la sábila; y de esta forma determinar el grado de estabilidad de su materia orgánica, además de lograr una mejor interpretación de los posibles efectos que pudiese generar su aplicación al suelo.

Materiales y métodos

Se emplearon tres tipos de residuos orgánicos de procedencia local (estado Falcón): estiércol de chivo recolectado en uno de los criaderos de

la localidad de "El Taparo", Península de Paraguaná, residuo del procesamiento de la sábila (*Aloe vera*), recolectado en una planta procesadora

industrial de sábila (PIZCA), en Coro y lodo residual seco proveniente del tratamiento de aguas servidas, recolectados en los lechos de secado de la Planta de Tratamiento de Aguas Servidas del Centro de Refinación Paraguaná (CRP) de PDVSA en Cardón. Los residuos orgánicos fueron secados al aire y pasados por un tamiz de 2 mm. La caracterización química general de estos materiales con la respectiva referencia del método empleado en cada caso, se muestran en el cuadro 1.

El fraccionamiento de la materia orgánica en los materiales se efectuó empleando el método de Sequi *et al.* (28). Considerando las características que exhibe la solubilidad de la materia orgánica, se extrajeron sus diferentes fracciones empleando soluciones de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 M y pirofosfato de sodio ($\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$) 0,1 M. Para separar las fracciones, se pasaron los extractos a través de una columna de Polivinilpirrolidona insoluble (PVP). Las fracciones obtenidas incluyen ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y sustancias no húmicas (31).

El contenido de carbono orgánico en el extracto y en las fracciones se determinó de acuerdo al método de Walkey Black modificado (3), basado en la oxidación con dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) (200 mg) y ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (4 mL), midiendo colorimétricamente a longitud de onda igual a 600 nm. Luego, se calcularon algunos parámetros útiles en la valoración de la estabilidad de la materia orgánica, tales como el índice, el grado, la tasa y la relación de humificación; además de la relación ácidos fúlvicos (AF)/ ácidos

húmicos (AH) y el grado de polimerización.

La gráfica para representar el % de carbono orgánico en las diferentes fracciones de la materia orgánica, se elaboró empleando el programa graficador SIGMA PLOT. Versión 7.0 (29).

El ensayo de fitotoxicidad se efectuó por el método de determinación del índice de germinación, empleando semillas de berro (*Lepidium sativum*), propuesto por Zucconi *et al.* (36). Se obtuvo primeramente un extracto acuoso de 5 g de muestra, distribuyendo al azar, en placa de Petri con papel de filtro, 10 semillas de berro y añadiendo posteriormente 1 mL del extracto obtenido. El control se preparó utilizando agua destilada. Este procedimiento se hizo por quintuplicado. Las placas de Petri se incubaron a 25°C en la oscuridad, deteniendo la germinación luego de 24 horas por adición de 1 mL de etanol.

Posteriormente, se contaron las semillas que germinaron exitosamente y se midieron las raíces, para así calcular el índice de germinación: $\text{IG} = [(\% \text{ GM} \times \text{LM}) / (\% \text{ GC} \times \text{LC})] \times 100$; donde: IG = índice de germinación; % GM = porcentaje de semillas germinadas de la muestra (extracto); % GC = porcentaje de semillas germinadas del control (agua destilada); LM = longitud media de las raíces de las semillas de la muestra y LC = longitud media de las raíces de las semillas del control.

Tratamiento Estadístico

El análisis se efectuó empleando estadística básica, usando el paquete estadístico STATISTICA. Versión 6.0 (30).

Cuadro 1. Caracterización química general de los residuos orgánicos (1)

Parámetro (unidad)	Lodo Residual	Estiércol de chivo	Residuo de sábila	Referencias del método
pH (H ₂ O)	6,50 ± 0,000	8,80 ± 0,000	5,30 ± 0,058	(17)
CE (dS m ⁻¹)	1,93 ± 0,029	7,66 ± 0,571	2,36 ± 0,026	(17)
COT (%)	25,33 ± 1,630	32,66 ± 0,920	39,75 ± 0,730	(3)
MO (%)	43,67 ± 2,810	56,31 ± 1,594	68,53 ± 1,259	(3)
C/N	12,50 ± 1,546	15,10 ± 1,427	60,40 ± 1,110	(15)
N total (%)	2,04 ± 0,298	2,16 ± 0,213	0,66 ± 0,000	(15)
P total (%)	0,13 ± 0,017	0,06 ± 0,004	0,04 ± 0,003	(19)
P disponible (µg g ⁻¹)	65,29 ± 2,595	217,22 ± 10,219	19,75 ± 0,585	(22)
Na total (%)	0,10 ± 0,003	0,24 ± 0,008	0,07 ± 0,003	(13)
K “ (%)	0,14 ± 0,016	3,31 ± 0,049	0,72 ± 0,013	(13)
Mg “ (%)	0,55 ± 0,024	0,97 ± 0,001	0,16 ± 0,003	(13)
Ca “ (%)	7,14 ± 0,221	3,59 ± 0,087	2,79 ± 0,262	(13)
Fe “ (mg kg ⁻¹)	25546 ± 381	1677 ± 309	287,10 ± 9,3	(13)
Cu “ (mg kg ⁻¹)	206,6 ± 2,7	12,7 ± 0,43	2,70 ± 0,26	(13)
Mn “ (mg kg ⁻¹)	149,0 ± 1,0	97,1 ± 1,2	29,80 ± 0,80	(13)
Ni “ (mg kg ⁻¹)	28,1 ± 0,53	4,4 ± 0,90	7,40 ± 0,00	(13)
Zn “ (mg kg ⁻¹)	878,6 ± 3,2	71,1 ± 6,4	8,20 ± 0,90	(13)
Cd “ (mg kg ⁻¹)	3,7 ± 0,04	<1	<1	(13)
Pb “ (mg kg ⁻¹)	253,0 ± 17	3,7 ± 0,30	<1	(13)

Resultados y discusión

I. Fraccionamiento de la materia orgánica y cálculo de los parámetros de humificación

La figura 1 muestra los resultados obtenidos en la determinación del C orgánico para cada una de las fracciones orgánicas y el carbono extraíble en cada uno de los materiales de origen (residuos orgánicos).

El cuadro 2 muestra los parámetros de humificación calculados para los distintos materiales orgánicos. El contenido de C extraíble (CE_x) resultó ser ligeramente mayor en el

estiércol de chivo y en el residuo de sábila con respecto al lodo residual; esto se deriva lógicamente del contenido de carbono orgánico total (COT) en cada uno de estos materiales (cuadro 1).

El contenido de C orgánico en el extracto y en la fracción de ácidos húmicos mostró la misma tendencia para el lodo y el estiércol, no siendo así para el residuo de sábila donde la fracción de ácidos húmicos fue menor con respecto a los otros residuos. El valor de la fracción de ácidos húmicos (AH) fue similar para el lodo y estiércol

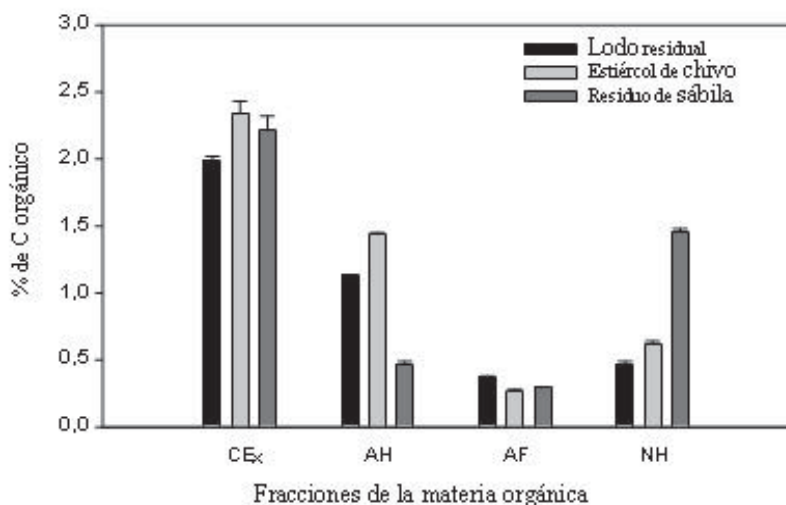


Figura 1. Valores obtenidos para el carbono extraíble y las fracciones de la materia orgánica en los tres residuos orgánicos estudiados.

de chivo, mientras que la fracción de carbono de ácidos fúlvicos (AF) resultó en valores similares para el estiércol y el residuo de sábila. Los valores determinados para las fracciones no húmicas (NH) fueron variables para todas las enmiendas orgánicas. En el caso del lodo residual, los valores obtenidos para las fracciones de carbono resultaron muy variables y en

esencia esto depende de la naturaleza, composición y contenido de materia orgánica de los mismos. Saviozzi *et al.* (27) y Bernal *et al.* (6) determinaron en un lodo porcentajes mayores de C de ácidos húmicos (AH) y el C de ácidos fúlvicos (HF) que los obtenidos para el lodo en este estudio. Frecuentemente los ácidos húmicos de los lodos han sido comparados con las

Cuadro 2. Parámetros de humificación para los diferentes residuos orgánicos

Parámetro	Fórmula	Lodo residual	Estiércol de chivo	Residuo de sábila
Índice de humificación	$IH = NH / (AF + AH)$	0,32	0,36	1,90
Grado de humificación (%)	$GH = (AF + AH / CE_x) \times 100$	75,90	30,50	34,50
Tasa de humificación (%)	$TH = (AF + AH / COT) \times 100$	5,90	5,30	1,90
Relación AF / AH	AF / AH	0,32	0,19	0,60
Grado de polimerización	$GP = AH / AF$	3,09	5,28	1,66
Relación de humificación (%)	$RH = (CE_x / COT) \times 100$	7,80	7,20	5,60

sustancias húmicas acuáticas (7). Terry *et al.* (32), al analizar la fracción de C de AH en lodos, indicaron la presencia de una porción más resistente a la biodegradación y una gran proporción de ácidos grasos de cadena corta y β -hidroxiácidos, la cual interpretaron como el efecto de los microorganismos responsables de la formación de polímeros en los lodos. Así, el hecho de que el contenido de C de AH sea algo mayor en los lodos, puede deberse también a la remoción y extracción de otros materiales orgánicos, los cuales en forma similar a los ácidos húmicos, pueden precipitar a pH 2. Para el caso del estiércol de chivo, con valores de C orgánico para AH = 1,44 y NH = 0,62, se han reportado valores muy cercanos, de 1,57 y 0,68 para AH y NH, respectivamente (11).

Los valores de la tasa de humificación $[(AF + AH / COT) \times 100]$ y la relación de humificación $[(CE_x / COT) \times 100]$ resultaron más altos para el lodo residual; lo cual, en la relación de humificación sugiere un incremento en la fracción de C soluble en un medio alcalino. Por lo tanto, el incremento en la tasa de humificación puede indicar un incremento en la complejidad estructural de las moléculas, mostrando por ende características húmicas más acentuadas; las cuales estarían indicadas también por un valor más alto del grado de humificación $[(AH + AF / CE_x) \times 100]$ en el lodo, con respecto a los otros residuos.

En relación al índice de humificación $(NH / AF + AH)$, el lodo mostró valores bajos (< 1), aunque los

valores de las tres fracciones involucradas (AH, AF y NH) fueron mayores. El índice de humificación es un parámetro que estima la calidad de los materiales orgánicos, indicando la cantidad de carbono no humificado en relación al carbono humificado; de forma que, para los materiales orgánicos en estudio, éste parámetro indicó que la cantidad de carbono humificado guarda una relación: residuo de sábila $<$ estiércol de chivo $<$ lodo residual. Contrario a lo que ha sido considerado para la mayoría de los lodos residuales, en los cuales el índice de humificación está siempre entre 1 y 2 (algunas veces mayor que 2), el lodo residual aquí estudiado resultó bien humificado con un índice < 1 , tal como se ha indicado también para los estiércoles bien maduros (9, 10). Los valores de éste índice para el lodo y el estiércol de chivo fueron similares. Para el residuo de sábila el porcentaje de sustancias no húmicas fue más alto que en los otros residuos. Esta fracción, no adsorbida en la columna de PVP, contiene polisacáridos, polipéptidos o ligninas alteradas, las cuales no son consideradas como compuestos húmicos (8). La relación para el IH en los materiales se estimó como: lodo $>$ estiércol de chivo $>$ residuo de sábila.

Por otra parte, la relación C/N obtenida para el lodo residual y el estiércol de chivo mostró valores menores de 20, indicando que tanto el lodo como el estiércol son materiales más estabilizados que el residuo de sábila, el cual es un material muy fresco, con una relación C/N mucho mayor que 30. En el caso de las relaciones C/N superiores a 30, se

producen altos niveles de oxidación de carbono, y por lo tanto, pérdidas del material (23). El lodo residual con una relación C/N de 12,5 indica que su materia orgánica es más estable que la de los otros dos residuos, debido principalmente a que este material pasa por un proceso de estabilización previa en la planta de tratamiento. Este parámetro se ha venido empleando para indicar la estabilidad de la materia orgánica contenida en los materiales orgánicos, considerando que su valor cambia conforme lo hace la edad del residuo.

La relación de las fracciones AH y AF en relación al carbono total extraíble está representado por el grado de humificación (GH), el cual resultó ser mayor en el lodo residual (75,9 %), indicando que se trata de un material muy humificado; considerando que esta definición se aplica a materiales que tengan un valor de GH por encima del 60%. Existen diferencias entre estos materiales orgánicos en lo que se refiere al grado de humificación; en el lodo residual con respecto al estiércol no son tan acentuadas. En el lodo, estas características están condicionadas por las limitaciones intrínsecas en el proceso de su estabilización en la planta de tratamiento y en los lechos de secado; que nunca pueden reproducir las condiciones del suelo, medio natural donde este proceso se llevaría a cabo a partir de una biomasa más elevada.

El “grado de polimerización” (AH / AF), definido por Roig *et al.* (24), resultó ser mayor en el estiércol de chivo con respecto a los demás residuos. Este parámetro, conjuntamente con la

relación de humificación, han sido interpretados como los índices más sensitivos para el seguimiento de los procesos de humificación y han sido propuestos como indicadores de maduración; por lo que pueden entonces, reflejar la formación de moléculas complejas (AH) a partir de moléculas más simples (AF) y una disminución de los componentes no-húmicos de la fracción de ácidos fúlvicos, los cuales son los más fácilmente degradados por los microorganismos (26). Estos parámetros reflejaron entre los residuos las siguientes relaciones: GP: residuo de sábila < lodo residual < estiércol de chivo; y RH: residuo de sábila < estiércol de chivo > lodo residual. Para la tasa de humificación (TH), los porcentajes resultaron bajos para todos los residuos, no alcanzando el límite inferior indicado normalmente para suelos (13 – 37 %), el cual es un intervalo mucho más bajo que el indicado para otros materiales orgánicos como turbas, de mayor del 60% (8). Este parámetro representa el porcentaje de sustancias humificadas con respecto al carbono orgánico total $[(AF + AH / COT) \times 100]$.

II. Prueba de fitotoxicidad

El cuadro 3 indica el valor del índice de germinación (%) calculado para los diferentes residuos orgánicos empleados en el estudio, considerando que para el control este índice corresponde al 100 %. La tabla muestra además, el porcentaje de semillas germinadas y la longitud media de las raíces. Los valores obtenidos para los índices de germinación para el lodo residual y el estiércol de chivo se

encuentran por debajo del 60 %, límite de fitotoxicidad propuesto por Zucconi *et al.* (34). Sin embargo, estos valores son cercanos entre sí y para el caso del estiércol de chivo, la diferencia con respecto al valor límite es menor.

De acuerdo a estos resultados el residuo de sábila proporciona un medio más adecuado para la germinación y el crecimiento de las plantas; no indicando, con esto, ningún efecto desfavorable sobre las semillas por acción de algunas sustancias fitotóxicas. Zucconi *et al.* (35) indicaron, que existe una fuerte toxicidad cuando el índice de germinación es inferior al 50 %. Ciertos efectos desfavorables pudiesen estar siendo mostrados por el lodo residual, cuyo índice de germinación fue inferior al 60% y más cercano al 50%; esto es razonable, si se toma en cuenta que este material puede llevar consigo una diversidad de compuestos orgánicos de los cuales algunos podrían ser tóxicos a las plantas. El porcentaje de germinación para el estiércol de chivo también resultó ligeramente inferior al 60%, lo que puede estar relacionado básicamente a su alta salinidad.

Bajo condiciones favorables, la germinación de las semillas es el

primer paso en el desarrollo de una planta. Cualquier efecto adverso sobre la germinación, tendría un impacto directo sobre la sobrevivencia de ésta. En algunas semillas, la germinación puede ser totalmente inhibida, mientras que en otras puede ser solamente debilitada con lo cual éstas se hacen susceptibles al ataque de insectos, bacterias, hongos y virus. La germinación de las semillas es una prueba indicadora muy común debido a que es un método bastante simple, rápido y además no destructivo. La germinación es considerada exitosa cuando la longitud de las raíces alcanza de 3 mm a 20 mm respectivamente (33). La desventaja de la prueba de germinación es que representa un valor contable, y como tal no expresa la intensidad del efecto tóxico.

Ayuso *et al.* (4) estudiaron los efectos fisiológicos de tres grupos diferentes de residuos municipales (la fracción orgánica de un residuo sólido municipal, lodos residuales del tratamiento de aguas servidas y los composts de cada uno de estos materiales) sobre la germinación de las semillas de *Lepidium sativum*, determinando que los extractos acuosos de los productos frescos

Cuadro 3. Índice de germinación, % de semillas germinadas y longitud media de las raíces para los diferentes materiales orgánicos empleados, usando berro (*Lepidium sativum*) como planta indicadora.

Residuo	Índice de germinación (%)	Semillas germinadas (%)	Longitud media de las raíces (mm)
Lodo residual	53,2	90 ± 10,0	2,9 ± 0,11
Estiércol de chivo	57,9	88 ± 8,37	3,3 ± 0,26
Residuo de sábila	67,0	92 ± 8,40	3,6 ± 0,68

(residuos sólidos municipales y lodos residuales) inhibieron la germinación. Observaron que el grado de inhibición disminuyó con la materia orgánica más estabilizada. Encontraron, además, que los productos compostados contenían sólo trazas de ácidos orgánicos de bajo peso molecular (ácidos fórmico, acético, propiónico y butírico), mientras que estos compuestos fueron encontrados en los productos frescos. En nuestro estudio, aún cuando el residuo de sábila resultó ser el material menos estabilizado, no inhibió la germinación de las semillas sino que, por el contrario, su extracto mostró ser un medio bastante adecuado para la germinación de éstas.

Se ha indicado que las sustancias fitotóxicas pueden ser degradadas mediante el proceso de compostaje (16). Melgar *et al.* (21) evaluaron la influencia de uno de los subproductos del olivar, orujo seco y extractado solo y mezclado con un lodo residual

anaeróbico, como enmendante agrícola (acolchado o mulching) de un suelo degradado y un cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*, L). Estos residuos fueron tratados durante un periodo de 160 días mediante procesos de estabilización de la materia orgánica en presencia o ausencia de lombrices (vermicompost) una ecobiotecnología de bajo costo, capaz de estabilizar diferentes tipos de residuos, entre los que se cuentan los derivados del aceite de oliva como el orujo seco y extractado (5, 14). Para evaluar la fitotoxicidad, los autores determinaron el índice de germinación usando semillas de *Lepidium sativum*, obteniendo valores cercanos al 60%. Indicaron que el vermicompostaje aumentó notablemente dicho índice, incluso superando el 100 % en la mezcla orujo-lodo, lo que puede indicar un claro efecto estimulador de este material orgánico sobre el crecimiento.

Conclusiones

Los valores obtenidos del índice de humificación (IH), tanto para el lodo como para el estiércol (0,32 y 0,36) sugieren que estos son materiales orgánicos más humificados, y de acuerdo a su caracterización química, ambos residuos resultaron ser materiales más adecuados para su posible utilización como enmiendas orgánicas; demostrado, básicamente, por el mayor contenido de nutrientes con respecto al residuo de sábila. Sin embargo, el estiércol de chivo presentó una alta salinidad y el residuo de sábila mostró una elevada relación C/N; lo

cual podría limitar su uso en términos de la dosis y la frecuencia de aplicación.

El índice de germinación obtenido para el residuo de sábila (67%), en relación al del estiércol de chivo (57,9 %) y el lodo residual (53,2%), indicó que este material proporciona un medio más adecuado para la germinación de las semillas y el crecimiento de las plantas, no mostrando ningún efecto desfavorable por acción de algunas sustancias orgánicas fitotóxicas. Obviamente, en este caso, la prueba de germinación no guardó relación con el nivel de estabilidad de la materia

orgánica de los residuos. El índice de germinación del lodo residual (inferior al 60 %) puede indicar que este material, posiblemente, contiene algunos compuestos orgánicos que

pueden ser tóxicos a las plantas. En el estiércol, este valor también resultó ligeramente inferior al 60 %, lo que probablemente esté más relacionado con su alta salinidad.

Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento al Instituto Venezolano de Investigaciones

Científicas (IVIC) y al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT).

Literatura citada

1. Acosta, Y., J. Paolini, S. Flores, Z. Benzo, M. El Zauahre, L. Toyo y A. Senior. 2003. Evaluación de metales pesados en tres residuos de diferente naturaleza. *Multiciencias*. 3 (1): 51-60.
2. Alderdice, D. 1967. The detection and measurement of water pollution-biological assays. p. 33-39. In: *Canadian Fisheries Report N° 9*. Canadian Department of Fisheries.
3. Anderson, J. y J. Ingram. 1993. *Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods*. Second edition. Cab international. Wallingford, UK. 62 p.
4. Ayuso, M., J. Pascual, C. García y T. Hernández. 1996. Evaluation of urban wastes for agricultural use. *Soil. Sci. Plant. Nutric.* 42: 105-111.
5. Benítez, E., R. Nogales, C. Elvira, G. Masciandaro y B. Ceccanti. 1999. Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludges composting with *eisenia foetida*. *Biores. Techn.* 67: 297-303.
6. Bernal, M., A. Navarro, M. Sánchez-Monedero, A. Roig y J. Cegarra. 1998. Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. *Soil Biol. Biochem.* 30 (3): 305-313.
7. Boyd, S., I. Sommers y D. Nelson. 1980. Changes in humic acid fraction of soil resulting from sludge application. *Soil Sci.* 27: 196-205.
8. Ciavatta, C. y M. Govi. 1993. Use of insoluble polyvinylpyrrolidone and isoelectric focusing in the study of humic substances in soils and organic wastes. *J. Chromat.* 643: 261-270.
9. Ciavatta, C., I. Antisorì and P. Sequi. 1988. A first approach to the characterization of the presence of humified materials in organic fertilizers. *Agrochimica*. 32 (5-6): 510-517.
10. Ciavatta, C., M. Govi, I. Vittori y P. Sequi. 1990. Characterization of humified compounds by extraction and fractionation on soil polyvinylpyrrolidone. *J. Chromat.* 22 (164): 141-146.
11. Contreras, F. 2001. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas sobre las actividades enzimáticas (deshidrogenasa, ureasa, fosfomonoesterasa ácida y arilsulfatasa) y la mineralización del carbono en suelos del municipio Rivas Dávila (Estado Mérida). Tesis Doctoral. Postgrado en Ciencia del Suelo. Facultad de Agronomía. UCV, Maracay.
12. Costa, F., C. García, T. Hernández y A. Polo. 1991. Residuos orgánicos urbanos. Manejo y utilización. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Murcia. España. 181 p.

13. Díaz-Burgos, M., B. Ceccanti, y A. Polo. 1993. Monitoring biochemical activity during sewage sludge composting. *Biol. Fertil. Soils*. 16: 145-150.
14. Elvira, C., I. Sanpedro, J. Domínguez y R. Nogales. 1998. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *eisenia andrei*: a pilot-scale study. *Biores. Techn.* 63: 205-211.
15. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP). 1990. Manual de métodos y procedimientos de referencia. (Análisis de suelo para diagnóstico de fertilidad). Serie D. N°. 26. Escuela de Agronomía. Ministerio de Agricultura y Cría. FONAIAP. UCLA, Maracay. 206 p.
16. García, C., T. Hernández, F. Costa y J. Pascual. 1992. Phytotoxicity due to the agricultural use of urban wastes. *Germination Experiments*. *J. Sci. Food Agric.* 59: 313-319.
17. Instituto de Edafología. Universidad Central de Venezuela (UCV). 1993. Cuadernos de agronomía. Año 1. N°. 6. UCV. Maracay, Venezuela. 89 p.
18. Katayama, T. 1987. Stabilization process of sewage sludge compost in soil. p 341-350. In: M. De Bertoldi, M. Ferranti, P. Hermite and F. Zucchini (Eds). *Compost: production, quality and use*. Elsevier Applied Science. London, U.K.
19. Kuo, S. 1996. Phosphorus. p. 869-918. In: *Methods of soil analysis*. Part. 3. Chemical Methods. Book Series. N°. 5. Soil Science Society of American Society of Agronomy (SSSA). 677 S. Segeord., Madison, WI 53711, USA.
20. Manios, V., P. Tsikalas y H. Simmins. 1987. Phytotoxicity of olive tree leaf compost. p. 296-301. In: M. De Bertoldi, M. Ferranti, P. Hermite, and F. Zucchini (Eds). *Compost: production, quality and use*. Elsevier Applied Science. London, U.K.
21. Melgar, R., E. Benítez, H. Sainz, A. Polo, M. Gómez y R. Nogales. 2000. Los vermicompost de subproductos del olivar como acolchado del suelo: efecto sobre la rizosfera. *Edafología*. 7-2: 125-134.
22. Murphy, J. y J. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta.* (27):31-39.
23. Rivero, C. 1999. Materia orgánica del suelo. *Revista Alcance* 57. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 211p.
24. Roig, A., A. Lax, J. Cegarra, F. Costa y M. Hernández. 1988. Cation-exchange capacity as a parameter for measuring the humification degree of manures. *Soil Sci.* 146: 311-316.
25. Ross, S.H. y Kaye, K. 1994. The meaning of metal toxicity in soil-plant systems. p.p. 27 – 61. In: *Toxic Metal in Soil-Plant Systems*. Ed. Sheila M. Ross. John Wiley & Son, England.
26. Sánchez-Monedero, M., A. Roig, J. Cegarra y M. Bernal. 1999. Relationships between water-soluble carbohydrate and phenol fractions and the humification index of different organic wastes during composting. *Biores. Technol.* 79: 193-201.
27. Saviozzi, A., A. Biasci, R. Riffaldi y R. Levi-Minzi. 1999. Long-term effects of farmyard manure and sewage sludge on some soil biochemical characteristics. *Biol. Fertil. Soils*. 30: 100-106.
28. Sequi, P., M. De Nobile, G. Leita y G. Cercignani. 1986. A new index of humification. *Agrochimica*. 30: 1-2.
29. SPSS, Inc. 2001. Sigma Plot para window. Version 7.0. Science Marketing.
30. Stat Soft, Inc. 2001. Statistica. Versión 6.0.
31. Stevenson, F. (Ed.). 1994. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd. ed. John Wiley and Sons, New York. 496 p.
32. Terry, R., D. Nelson y I. Sommers. 1979. Descomposition of anaerobically digested sewage sludge as affected by soil environmental conditions. *J. Environ. Qual.* (8): 3-12.

33. Wang, W. 1992. Use of plants for the assessment of environmental contaminants. p. 87-121. In: G. Ware (Ed.). Reviews of environmental contamination and toxicology. Board Editorial.
34. Zucconi, F., M. Forte, A. Mónaco y M. De Bertoldi. 1981a. Evaluating toxicity of in nature compost. *Biocycle*. 22: 54-57.
35. Zucconi, F., M. Forte, A. Mónaco y M. De Bertoldi. 1981b. Biological evaluation of compost maturity. *Biocycle*. 22: 27-29.
36. Zucconi, F., A. Mónaco, M. Forte y M. De Bertoldi. 1985. Phytotoxins during the stabilization of organic matter. p. 73-86. In: J. Gasser (Ed.). Composting of agricultural and other wastes. Elsevier Applied Science Publishing. London, England.