

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**PROPUESTA PARA REVALORIZAR EL GUANO DE GALLINA PARA SU USO
COMO BIOESTIMULANTE Y ACONDICIONADOR DE SUELO**

POR

JOSE MANUEL SEPÚLVEDA PALOU

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN – CHILE
2025**

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**PROPUESTA PARA REVALORIZAR EL GUANO DE GALLINA PARA SU USO
COMO BIOESTIMULANTE Y ACONDICIONADOR DE SUELO**

POR

JOSE MANUEL SEPÚLVEDA PALOU

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN – CHILE
2025**

Aprobada por:

Profesor Asistente, Anali Rosas G.
Ing. Agrónomo, Dr. Cs.

Guía

Profesor Asistente, Raúl Cerda G.
Ing. Agrónomo, Mg., Dr.

Asesor

Profesor Asistente, Mauricio Schoebitz C.
Ing. Agrónomo, Dr.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells M.
Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen	1
Summary	1
Introducción	2
Diagnóstico.....	5
Conclusiones.....	22
Recomendaciones.....	23
Referencias.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

		Página
Figura 1	Temperatura interna (Grados °C) y humedad interna (%) durante el proceso de fermentación de guano de gallina.....	12
Tabla 1	Análisis químico de una muestra de Guano de Gallina comparada a la norma chilena 2880.....	6
Tabla 2	Análisis químico de una muestra de bioestabilizado de guano de gallina comparada con la norma chilena 2880.....	7
Tabla 3	Actividad de enzimas que mineralizan P (fosfatasa) , S (arilsulfatasa) y N (L-asparaginasa y L-glutaminasa) en fermentado de estiércol de bovino y su comparación con la actividad enzimática en diferentes suelos y en humus de lombriz (sin formulante).....	14
Tabla 4	Comparación de parámetros químicos y físico de bioestabilizado de la empresa “AgroSepa” con la Norma Chilena de compost y con parámetros de guanos y fermentados disponibles en el mercado Chileno en el 2024.....	15
Tabla 5	Efecto de la aplicación de diferentes dosis de bioestabilizado de guano de pavo, en comparación con la fertilización convencional sobre el rendimiento de cultivo de Zea mays.....	18
Tabla 6	Referencia de precios de guanos y fermentados disponibles en el mercado chileno en 2024.....	20

PROPUESTA PARA REVALORIZAR EL GUANO DE GALLINA PARA SU USO COMO BIOESTIMULANTE Y ACONDICIONADOR DE SUELO

PROPOSAL TO REVALUE CHICKEN MANURE FOR USE AS A BIOSTIMULANT AND SOIL CONDITIONER

Palabras índice adicionales: Bioestabilizado, nanopartículas, enzimas, humedad aprovechable.

RESUMEN

Para solucionar el problema del manejo de guano fresco, en la empresa Agro Sepa se realiza una propuesta para revalorizar el guano de gallina como bioestimulante y acondicionador de suelo mediante fermentación controlada y nanopartículas de alofán. Específicamente se propone que, el guano, rico en nutrientes y materia orgánica, se estabiliza en la máquina "Kohshin" para reducir la pérdida de amoníaco y favorecer la actividad microbiana. La propuesta también incluye añadir formulantes a los fermentados para proteger las biomoléculas que se producen en estas fermentaciones, de modo de mejorar su duración una vez aplicada al suelo. Luego, se sugiere evaluar la calidad del fermentado a través de análisis indicado por la norma NCh 2880 y, determinar la actividad de enzimas de los ciclos de los nutrientes, humedad aprovechable, punto de marchitez permanente, capacidad de campo y el contenido de micro y macronutrientes. Todos estos parámetros le permitirán a la empresa demostrar que el bioinsumo generado es una alternativa sustentable para mejorar la fertilidad del suelo y apoyar la agricultura regenerativa con menor impacto ambiental que el guano fresco.

SUMMARY

To address the management of fresh chicken manure, "Agro Sepa" proposes valorizing chicken manure as a biostimulant and soil conditioner through controlled fermentation and allophane nanoparticles. The manure, rich in nutrients and organic matter, is stabilized using the "Kohshin" machine to reduce ammonia loss and enhance microbial activity. Additionally, formulants are added to protect the

biomolecules produced during fermentation, extending their effectiveness in the soil. The quality of the fermented product will be evaluated according to the NCh 2880 standard, assessing enzymatic activity, available moisture, field capacity, permanent wilting point, and nutrient content. These parameters will demonstrate that the bioinput is a sustainable alternative to improve soil fertility and promote regenerative agriculture with a lower environmental impact compared to fresh manure.

INTRODUCCIÓN

En un escenario donde la sostenibilidad agrícola es fundamental, los bioestimulantes orgánicos surgen como una alternativa para optimizar la fertilidad del suelo, reducir la dependencia de fertilizantes sintéticos y promover prácticas regenerativas. Estos productos permiten aprovechar recursos renovables y minimizar los efectos ambientales negativos asociados con la agricultura intensiva.

Los bioinsumos son productos de origen biológico aplicados en agricultura para mejorar la productividad, salud y calidad de plantas y suelos. La Red Chilena de Bioinsumos (2017) los define como sustancias o agentes naturales utilizados en plantas, semillas y suelos para incrementar su productividad y calidad. Estos productos se dividen en bioinsumos para la nutrición vegetal, como biofertilizantes, bioestimulantes y biomejoradores, y bioinsumos para la defensa fitosanitaria, como biocontroladores, bioplaguicidas y biofungicidas. En este ámbito, los nano-biofertilizantes (NBF), que combinan nanopartículas y biofertilizantes tradicionales, destacan como una tecnología emergente y sostenible que presenta grandes beneficios en su uso agrícola, pero les falta mayor desarrollo (Sharma *et al.*, 2023).

Entre las propiedades de los bioinsumos se encuentra la de acondicionador de suelos, definida como la capacidad de un material de mejorar las propiedades físicas, químicas o biológicas del suelo, facilitando la retención de nutrientes y agua, y promoviendo la estabilidad de la materia orgánica. Esta función permite optimizar la estructura del suelo y fomentar la actividad de microorganismos benéficos, lo cual incrementa su fertilidad y favorece el crecimiento de las plantas (Garrido, 2017).

Según la Ley Chilena 21.349, que establece normas sobre composición, etiquetado y comercialización de los fertilizantes y bioestimulantes, define a los

bioestimulantes como sustancia o mezcla de sustancias o microorganismos, aplicables a semillas, plantas o rizósfera, que estimulan los procesos naturales de nutrición de las plantas, con el objeto de mejorar la eficiencia en el uso de nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico, los atributos de calidad, o la disponibilidad de nutrientes inmovilizados en el suelo o en la rizósfera.

Se puede inferir que los biofertilizantes mencionados por la Red Chilena de Bioinsumos (2017) serían clasificados como bioestimulantes de acuerdo a la Ley Chilena 21.349. Los biofertilizantes proporcionan macro y micronutrientes esenciales en formas disponibles para las plantas, como nitrógeno, fósforo y potasio, además de hierro, manganeso y zinc. También contienen biomoléculas biológicamente activas, tales como enzimas, hormonas de crecimiento, ácidos orgánicos (como citrato, oxalato, succinato y malato), polímeros orgánicos y aminoácidos. Las enzimas son catalizadores que permiten la liberación de nutrientes desde la materia orgánica en forma sincronizada con los requerimientos de la planta. Considerando que en la materia orgánica puede haber un gran reservorio de nutrientes como fósforo, nitrógeno y azufre, que pueden ser mineralizados por las enzimas, estas biomoléculas son clave para convertir a los bioinsumos en una herramienta eficaz y ecológica para mejorar la productividad agrícola de manera sostenible.

Es necesario mejorar urgentemente la tecnología de uso de nutrientes mejorando la naturaleza de los fertilizantes o su método de aplicación, para mejorar la eficiencia de uso y reducir el uso total de nutrientes (Bhardwaj, *et al* 2020). Para mejorar las formulaciones de los fertilizantes se propone el uso de la nanotecnología, que tiene el potencial de revolucionar el sector agrícola (Cota-Ruiz, 2020). La nanotecnología se ocupa del diseño de entidades ultra pequeñas, que tienen al menos una dimensión en el rango de 1 a 100 nm, que presentan propiedades extraordinarias en comparación con sus contrapartes a granel en términos de reactividad y otras propiedades fisicoquímicas. Las propiedades de las nanopartículas (NP) se atribuyen a su alta relación área superficial a volumen, que mejora su reactividad química, así como las respuestas físicas. Eso significa que una menor cantidad de nanomaterial puede hacer el mismo trabajo o incluso mejor

que sus formas a granel (Kumar, 2022).

La Ley Cambio Climático y el Proyecto de Ley Marco de Suelos en Chile promueven prácticas agrícolas sostenibles, priorizando la reducción de emisiones y la protección del suelo.

En la producción avícola, el guano de gallina es un subproducto abundante que, si no se maneja adecuadamente, puede representar un desafío ambiental. El guano fresco emite gases de efecto invernadero como dióxido de carbono y óxido nitroso y produce contaminación por emisión de amoníaco, lixiviación de nitrógeno y eutrofización. Además, altera el equilibrio químico del suelo y contamina con patógenos peligrosos para la salud animal. No obstante, su alto contenido de nutrientes lo convierte en un recurso valioso para la mejora de la fertilidad del suelo.

Las leyes antes mencionadas impulsan la restauración de suelos, la mitigación del cambio climático y la transición hacia sistemas regenerativos. Adoptar bioinsumos como el guano fermentado no solo cumple con estas normativas, sino que también fomenta prácticas agrícolas responsables y sostenibles para el sector agroalimentario.

En esta propuesta se plantea el desarrollo y evaluación de una formulación innovadora basada en el uso de guano de gallina fermentado y un nanomaterial denominado alofán. El guano aporta nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y materia orgánica, además de estimular la actividad microbiana. Por su parte, el alofán, gracias a sus propiedades como nanomaterial poroso, actúa como un formulante que protege a las enzimas, mejorando la eficiencia de la formulación en la liberación gradual de nutrientes. Además, el nanomaterial aumenta la retención de agua en suelo, mejorando las propiedades físicas, por lo que junto a la materia orgánica del bioestabilizado viene a constituir un acondicionador de suelo.

El objetivo general de esta pasantía fue realizar una propuesta para revalorizar el guano de gallina para su uso como bioestimulante y acondicionador de suelo, que contribuya a mejorar la fertilidad, la estructura y la capacidad de retención de agua en suelos agrícolas, promoviendo una alternativa innovadora y sostenible para la agricultura moderna.

DIAGNÓSTICO

Análisis y discusión de los antecedentes

Análisis interno y externo de la empresa 'AgroSepa'. En una pasantía realizada en la empresa avícola de producción de huevos "AgroSepa" se analizaron las posibilidades de revalorizar el guano de ave, luego de lo cual, se presenta una propuesta que busca transformar este subproducto en un bioestabilizado de alta eficiencia, al combinarlo con otros materiales que no solo mejoran sus propiedades, sino que también contribuyen a la reducción de residuos en otras industrias. En este marco, el uso de bioinsumos derivados del guano de gallina fermentado se presenta como una alternativa superior al uso de guano fresco.

Barreras actuales. Actualmente, la empresa aplica guano de gallina fresco directamente en praderas y otros cultivos. Aunque esta práctica puede parecer una solución económica y sencilla para mejorar la fertilidad del suelo, presenta varias barreras y limitaciones significativas que reducen su eficiencia y aumentan los costos operacionales, además de generar riesgos ambientales considerables.

Pérdida de eficiencia comparativa. El uso de guano de gallina fresco presenta una eficiencia relativamente baja como fertilizante debido a la volatilización del nitrógeno, especialmente cuando se aplica en superficies expuestas al aire y a la luz solar. Esta volatilización reduce el contenido de nitrógeno disponible para las plantas, lo que disminuye el impacto positivo del guano en el crecimiento de los cultivos. Además, la liberación de nutrientes del guano fresco no es controlada ni constante, lo que puede resultar en aplicaciones ineficientes y desbalances en la fertilización de las plantas.

Gastos operacionales. La aplicación de guano fresco en su forma original implica altos costos operativos. Esto se debe a la necesidad de transporte frecuente y en grandes volúmenes, lo que incrementa los costos de logística y almacenamiento. Además, el guano fresco, al ser un material de alta humedad, es pesado y difícil de manipular, lo que requiere maquinaria específica y mano de obra adicional para su esparcimiento efectivo en los campos. Estas condiciones aumentan los gastos de operación y reducen la rentabilidad general de esta práctica.

Contaminación ambiental. El uso de guano fresco también implica importantes

riesgos de contaminación ambiental, no solo por la liberación de amoníaco y otros compuestos volátiles durante su descomposición, sino también por la dinámica de los nutrientes como el fosfato. El guano es rico en fósforo, pero cuando se aplica en su forma fresca, parte del fosfato puede quedar inmovilizado en el suelo al unirse con minerales como el hierro y el aluminio, limitando su disponibilidad para las plantas. Sin embargo, una fracción significativa de este fósforo puede migrar junto con las partículas de suelo erosionadas, especialmente en terrenos con pendientes pronunciadas o con manejo inadecuado del riego, aumentando la posibilidad de contaminación de cuerpos de agua cercanos.

Este fenómeno puede agravar los procesos de eutrofización, dado que el exceso de fósforo favorece el crecimiento descontrolado de algas en ríos, lagos y embalses. Cuando las algas mueren y se descomponen, consumen grandes cantidades de oxígeno, lo que genera condiciones de hipoxia que afectan a la fauna acuática y disminuyen la biodiversidad. Además, las partículas de suelo movilizadas que contienen guano pueden obstruir canales y modificar las características físicas de los ecosistemas acuáticos, causando sedimentación acelerada y alteraciones en los ciclos ecológicos locales.

Marco legal. Las nuevas exigencias establecidas por la Ley de Cambio Climático y el Proyecto de Ley Marco de Suelos ejercen presión sobre empresas que utilizaban guano fresco, obligándose a adaptar sus procesos hacia prácticas más sostenibles. Estas normativas buscan reducir emisiones de gases de efecto invernadero, como el dióxido de carbono y óxido nitroso, y minimizar la contaminación del suelo y atmósfera. Esto implica que las empresas deban estabilizar el guano mediante fermentación, transformándolo en bioinsumos que cumplan con estándares ambientales más estrictos, aumentando los costos operativos, pero alineándose con las metas de sostenibilidad exigidas.

Propuesta de revalorización de residuos para producir bioestimulantes

En términos prácticos, la revalorización de residuos debe incorporar nuevas tecnologías. Para esto se debe desarrollar nuevas formulaciones (Rosas y Lopéz, 2013). Entonces en esta pasantía se le propone a la empresa desarrollar una innovación en forma de bioestimulante, para eso es necesario caracterizar las

propiedades de los materiales incluidos, para lo cual, se describe a continuación características de las materias primas con las que cuenta la empresa.

Guano de gallina. El guano de gallina fermentado es un material biológico orgánico ideal para la formulación de bioestimulantes, gracias a su elevado contenido de nitrógeno, fósforo y potasio, esenciales para el crecimiento vegetal. El proceso de fermentación potencia su acción al estabilizar los nutrientes, minimizar la volatilización del amoníaco y aumentar la concentración de microorganismos beneficiosos, como bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fósforo y actividad enzimática. Estos microorganismos promueven la salud del suelo y optimizan la absorción de nutrientes por las raíces, mejorando la eficiencia del bioestimulante. Además, el fermentado aporta fitohormonas naturales, como auxinas y citoquininas, que estimulan el desarrollo radicular, incrementa la tolerancia al estrés abiótico y fortalece el sistema inmunológico de las plantas. Por estas razones, el guano de gallina fermentado se posiciona como un componente clave en soluciones sostenibles para la agricultura regenerativa y biointensiva.

En la Tabla 1 y 2 se presenta una caracterización del análisis químico, del guano de gallina fresco de la avícola “AgroSepa” y del bioestabilizado producto de la fermentación respectivamente.

Tabla 1. Análisis químico del guano fresco de gallina comparada con la Norma Chilena 2880.

Determinación	Guano		Rango Base Peso Seco (NCh 2880)	
	Base peso seco	Base peso húmedo	Clase A	Clase B
pH (1:5)	6,2		5,0 - 8,5	5,0 - 8,5
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹) 1:5	17,6		≤0,3	≤8,0
Materia Orgánica (%) +	78,4	21,3	≥20	≥20
Carbono Orgánico (%)	45,5	12,4		

Continuación Tabla 1. Análisis químico del guano fresco de gallina comparada con la Norma Chilena 2880.

Determinación	Guano		Rango Base Peso Seco (NCh 2880)	
	Base peso seco	Base peso húmedo	Clase A	Clase B
Relación C/N	14	14	≤25	≤30
Nitrógeno total (%)	3,2	0,9	≥0,5	≥0,5
Nitratos (N-NO ₃ %)	0,005	0,001		
Amonio (N-NH ₄ %)	0,38	0,10		
Fósforo total (%P ₂ O ₅)	2,7	0,7		
Fósforo soluble (%P ₂ O ₅)	0,18	0,05		
Potasio (%K ₂ O)	1,3	0,4		
Calcio (%CaO)	5,5	1,5		
Magnesio (%MgO)	0,5	0,1		
Sodio (mg kg ⁻¹)	280	76		
Hierro (mg kg ⁻¹)	1271	345		
Manganeso (mg kg ⁻¹)	361	98		
Cinc (mg kg ⁻¹)	163	44		
Cobre (mg kg ⁻¹)	28	8		
Boro (mg kg ⁻¹)	25	7		
Humedad (%)	--	72,8	30 - 45	30 - 45

Fuente: Elaboración propia, obtenida de un análisis químico

Continuación Tabla 1. Análisis químico del guano fresco de gallina comparada con la Norma Chilena 2880.

Materia seca (%)	--	27,2		
Densidad en seco (g cm^{-3})	0,48	--	$\leq 0,7$	$\leq 0,7$

Fuente: Elaboración propia, obtenida de un análisis químico

Tabla 2. Análisis químico de una muestra de bioestabilizado de guano de gallina comparada con la norma chilena 2880.

Determinación	Bioestabilizado		Rango Base Peso Seco (NCh 2880)	
	Base peso seco	Base peso húmedo	Clase A	Clase B
pH (1:5)	8,9		5,0 - 8,5	5,0 - 8,5
Conductividad Eléctrica (dS m^{-1}) 1:5	23,9		$\leq 3,0$	$\leq 8,0$
Materia Orgánica (%)	39,2	32,2	≥ 20	≥ 20
Carbono Orgánico (%)	22,8	18,7		
Relación C/N	11	11	≤ 25	≤ 30
Nitrógeno (%)	2,2	1,8	$\geq 0,5$	$\geq 0,5$
Fósforo ($\%\text{P}_2\text{O}_5$)	3,7	3,0		
Potasio ($\%\text{K}_2\text{O}$)	4,2	3,4		
Calcio ($\%\text{CaO}$)	18,3	15,0		
Magnesio ($\%\text{MgO}$)	1,3	1,0		
Sodio (mg kg^{-1})	2482	2039		
Hierro (mg kg^{-1})	2319	1906		
Manganeso (mg kg^{-1})	499	410		

Fuente: Elaboración propia, obtenida de un análisis químico

Continuación Tabla 2. Análisis químico de una muestra de bioestabilizado de guano de gallina comparada con la norma chilena 2880.

Determinación	Bioestabilizado		Rango Base Peso Seco (NCh 2880)	
	Base peso seco	Base peso húmedo	Clase A	Clase B
Cinc (mg kg^{-1})	558	459	200	800
Cobre (mg kg^{-1})	220	181	70	400
Boro (mg kg^{-1})	62	51		
Humedad (%)	--	17,8	30-45	30 - 45
Materia seca (%)	--	82,2		
Densidad en seco (g cm^{-3})	1,07	--	$\leq 0,7$	$\leq 0,7$

Fuente: Elaboración propia, obtenida de un análisis químico

Formulante

Nanomaterial. El alofán es el constituyente principal de los minerales de arcilla de los Andisoles. Esta arcilla se caracteriza por presentar una área superficial que varía entre 700 a 1100 m^2/g y un tamaño aproximado de 35 a 55 Å (Parfitt, 1990), 3 a 5 nm, la esfera de alofan tiene 55 A, y la enzima 70 A. El alofán es considerado como una nanopartícula natural. Debido a su tamaño, gran área superficial, tamaño de poros y estabilidad estructural (nanoarcilla). Debido a la morfología esferoidal y porosidad tortuosa del alofán, la materia orgánica queda protegida, ya que limita el acceso de los microorganismos, ayudando a disminuir la transformación de la materia orgánica a dióxido de carbono (Chevallier *et al.*, 2008). Entre las tecnologías para producir un bioinsumos de alta eficiencia se ha desarrollado un prototipo de un biofertilizante enzimático descrito en la patente N° 54.342 (Rosas y López, 2013), que permite revalorizar residuos agropecuarios como los estiércoles, a través de un proceso de fermentación, donde las biomoléculas producidas, son encapsuladas en los agregados que forma la nanoarcilla denominada alofán, que es adicionada al fermentado resultante. Entre las moléculas orgánicas, que se producen durante la fermentación se encuentran enzimas como: fosfatasas, arilsulfatas, asparaginasas

y glutaminasas, que mineralizan el azufre, fósforo y nitrógeno a partir de la materia orgánica del fermentado, generando una liberación de nutrientes que está sincronizada con los requerimientos de la planta, evitando pérdida de nutrientes, lo cual aumenta su eficiencia como biofertilizante. El nanomaterial junto a la materia orgánica constituye, además, un acondicionador de suelos, que mejora las propiedades físicas, la retención de agua y el secuestro de carbono.

Estructurante

Paja de trigo. La paja de trigo actúa como estructurante clave en el bioestimulante orgánico a base de guano de gallina. Su fibra mejora la aireación, la retención de humedad y el desarrollo microbiano durante la fermentación, evitando la compactación. Además, aporta carbono orgánico, equilibrando la relación C/N y facilitando una fermentación eficiente. Esto optimiza la liberación de nutrientes, estabiliza el bioestimulante y mejora su eficacia en diversos suelos y en el desarrollo vegetal.

Proceso de producción de bioestabilizado

Se propone a la empresa realizar el Proceso de fermentación utilizando la máquina "Kohshin". La metodología del proceso de estabilizado de guano de gallina utilizando la máquina Kohshin implica una serie de pasos meticulosos para garantizar la transformación efectiva del material orgánico en un bioestabilizado de alta calidad. En primer lugar, el guano de gallina se somete a una preparación inicial que incluye la separación y cribado para eliminar impurezas gruesas como piedras y plumas. Una vez preparado, el guano se introduce en la máquina Kohshin, donde se mezcla homogéneamente con otros componentes si es necesario, en este caso se mezcla con rastrojo de trigo, como fuente de carbono.

Dentro de la máquina Kohshin, se inicia el proceso de compostaje controlado. Esto implica la creación de condiciones ideales para la descomposición aeróbica de la materia orgánica del guano. La máquina está diseñada para controlar de manera precisa parámetros críticos como la temperatura, la humedad y la oxigenación. Estos factores son fundamentales para promover la actividad microbiana beneficiosa y garantizar una descomposición eficiente de los materiales orgánicos. A lo largo del proceso, se realiza un monitoreo continuo de la temperatura y otros

indicadores clave para asegurar que se mantengan dentro de los rangos óptimos para la descomposición aeróbica. Se realizan ajustes según sea necesario para optimizar las condiciones dentro de la máquina y asegurar un proceso uniforme y efectivo de estabilización del guano.

El tiempo necesario para completar el proceso puede variar según las características específicas del guano y los ajustes de la máquina, pero generalmente se requieren de cuarenta a cincuenta y cinco días, para obtener un producto final estable y de alta calidad. Una vez finalizado el proceso en la máquina Kohshin, se obtiene un bioestabilizado de guano de gallina que cumple con estándares de seguridad, libre de patógenos y con mejoras significativas en nutrientes y estructura del suelo.

Este método proporciona una solución eficiente y controlada para convertir el guano de gallina en un recurso valioso para la agricultura y la mejora sostenible del suelo, contribuyendo así a prácticas agrícolas más eficientes y ambientalmente responsable

Proceso de producción del fermentado a escala piloto

En esta pasantía se realizó una fermentación piloto a escala de laboratorio que simula el proceso de fermentación que se realizará con la máquina Kohshin, para realizar una propuesta demostrativa a la empresa Agrosepa. Esta fermentación se desarrolló durante el periodo, 17 de junio de 2024 hasta el 28 de julio 2024.

El proceso de fermentación se puede ver afectado por la temperatura ambiente y las precipitaciones, por lo tanto, se desarrolló en un galpón, el cual se configuró aplicando como aislante poliestireno expandido, en las paredes y techo.

Hay que establecer que se busca acercarse lo más posible al proceso y al producto final que va a entregar la máquina Kohshin. Es por esto que previo a mezclar el guano con la paja, la paja se trilla en un molinillo dejando trozos de 5-10 cm de largo.

Se establecen los volúmenes de cada componente considerando las razones establecidas por indicación del buen uso de la máquina kohshin, relaciones de 1:25-1:35 rango de N:C y una humedad no superior de 60 %. Para los cálculos, se consideran valores en base peso seco. Con una paja y guano con humedad de

0.081 % y 72 % respectivamente, tenemos dos masas, 56,6 kg de paja y 244,8 de guano, con un total de 301,4 kg de mezcla. La mezcla de guano y paja se revuelve y queda homogénea. La mezcla se dispone sobre un tubo de aireación el cual libera pulsos de 5 minutos de aire cada 2 horas, además se voltea y revuelve con pala.

Una vez hecha la mezcla, comienza la primera etapa que dura una semana. El proceso se acompaña con mediciones diarias de temperatura y humedad. En esta etapa se busca alcanzar la activación microbiológica, evidenciada con el aumento de temperatura y pérdida de humedad, que es parecida a la etapa termófila dentro del proceso de compostaje.

La segunda etapa, con duración de 30 días, se realiza sin aireación forzada, para lo cual se retira la mezcla de la zona de aireación, y se dispone sobre una superficie de cemento, donde se voltea y revuelve con pala. Esta etapa busca mantener la oxigenación de la mezcla al revolver y continuar la homogeneización de esta. En esta etapa la temperatura y humedad comienzan con un descenso lento. Es comparable con la etapa mesófila del compostaje, incluyendo el enfriamiento. También se continúan realizando las mediciones diarias de temperatura y humedad.

Una vez finalizado el proceso, confirmado por los valores constantes en temperatura y humedad, podemos contar con el prototipo de bioinsumo. Este producto se utiliza posteriormente para realizar formulaciones con los aditivos.

Formulación del bioinsumo con nanopartículas a escala piloto

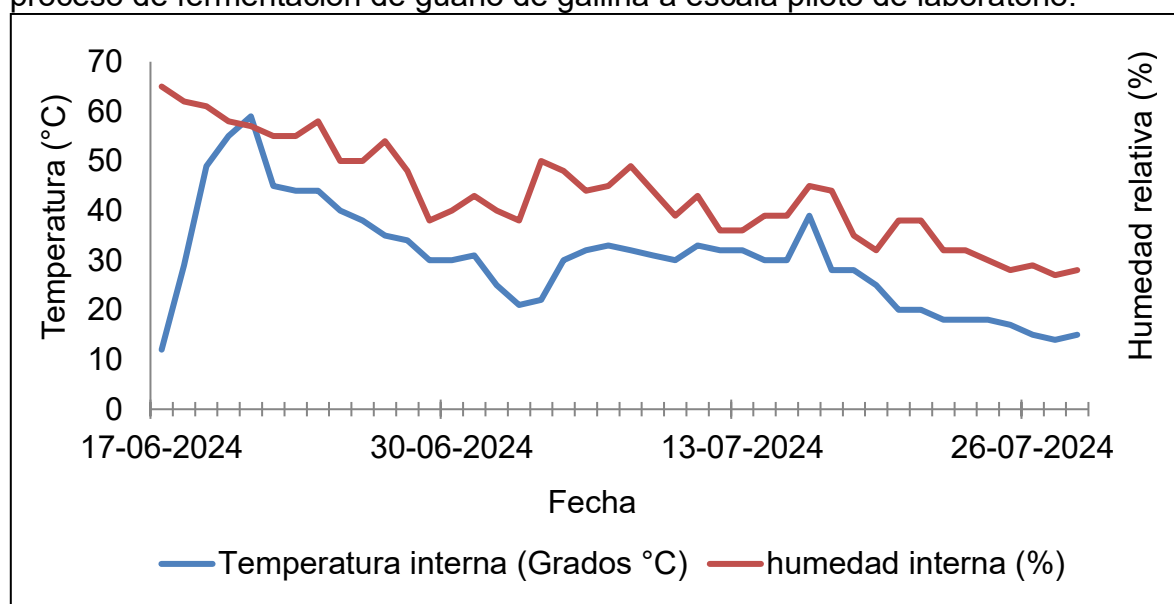
Considerando las nuevas tecnologías para mejorar la eficiencia de los biofertilizantes y la necesidad de mejorar la propiedad física de los suelos, en esta propuesta se consideró a adición del formulante propuesto en la patente 54.342 (Rosas y López, 2015). Una vez obtenido el bioestabilizado se realiza la adición del nanomaterial denominado alofán, el cual fue proporcionado por el Laboratorio de Bioprocesos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción. En los cálculos se consideran los volúmenes en base peso seco. Considerando que los suelos Andisoles, tienen entre un 15 % y un 20 % de alofan, se realizó una formulación que consiste en mezclar el bioestimulante con 15 % de alofan. El fermentado, con 27,6 % de humedad, y las nanopartículas con un 15 % de humedad, se dispone de una masa de 52,23 kg de fermentado que se mezcla con

8,36 kg de nanopartícula. Logramos una mezcla (fermentado + alofan) 50 kg en base peso seco.

Determinación de temperatura y humedad durante el proceso de fermentación a escala piloto

En la Figura 1. se presentan los parámetros de temperatura interna y humedad relativa durante el proceso de fermentación piloto.

Figura 1. Temperatura interna (°C) y humedad relativa interna (%) durante el proceso de fermentación de guano de gallina a escala piloto de laboratorio.



Fuente: Elaboración propia, con datos experimentales

Análisis sugeridos para el bioestimulante

Prueba de germinación para determinar la fitotoxicidad de la formulación. Se propone realizar pruebas de germinación con semillas de rabanito (*Raphanus sativus* L.) para evaluar la fitotoxicidad del bioestimulante de suelo, compuesto por fermentado y el formulante. Estas pruebas permitirán identificar si alguno de los componentes o la mezcla completa afecta la germinación o el desarrollo de las radículas, indicadores clave de salud y viabilidad de la planta. Las semillas de rabanito se seleccionan debido a su alta sensibilidad a metabolitos fitotóxicos y rápida germinación, lo que facilita una evaluación eficiente (Varnero *et al.*, 2007). Además, esta etapa es esencial para verificar que la aplicación del bioinsumo no

limite la elongación de las radículas ni interfiera con el crecimiento inicial de las plantas, garantizando así la seguridad del producto para uso agrícola.

Efecto del bioinsumo en la capacidad de retención de agua del suelo. Se propone evaluar la capacidad de campo (CC) y el punto de marchitez permanente (PMP) mediante el método de la placa a presión, complementado con la determinación de la humedad a través del secado de las muestras a 105 °C durante 48 horas (Sandoval *et al.*, 2011). Estos parámetros permitirán analizar cómo un bioestimulante de suelo compuesto por fermentado y alofán afecta la retención de agua. En estudios realizados por Garrido (2017) se demostró que el alofán contribuye a mejorar la capacidad de retención hídrica.

Indicadores de calidad del bioestabilizado

Producción de enzimas. Para evaluar la producción de enzimas durante el proceso de fermentación y en bioestabilizado se propone utilizar las metodologías descritas en la patente 54.342 (Rosas y López, 2015), centrándose en enzimas que mineralizan nutrientes como fosfatasa (Vuorinen 1999), arilsulfatasa, (Trasar-Cepeda *et al.*, 2008), L-asparaginasa y L- glutaminasa (Frankenberger y Tabatabai 1991; Keeney y Nelson 1982). En la Tabla 3 se presentan los valores de actividad enzimática que debe alcanzar el bioestabilizado y su comparación con valores obtenidos en diferentes suelos, en donde se puede apreciar que los fermentados de estiércoles producen una alta actividad enzimática que puede permitir recuperar la biofertilidad de los suelos, que producto de la degradación han perdido materia orgánica y con ellos las proteínas enzimáticas.

La determinación de la actividad enzimática y la aplicación de nanomateriales que protegen a estas enzimas, como el alofán, permite asegurar que el bioinsumo tendrá una acción biofertilizante, de alta eficiencia, que en suelos degradados permite producir mayor rendimiento que los fertilizantes convencionales (Rosas y López, 2015).

Estos análisis permiten demostrar que la combinación del fermentado con alofán mejora la fertilidad del suelo, promoviendo ciclos más eficientes de nutrientes y fortaleciendo prácticas de manejo agrícola sostenible.

Tabla 3. Actividad de enzimas que mineralizan P (fosfatasa), S (arilsulfatasa) y N (L-asparaginasa y L-glutaminasa) en fermentado de estiércol de bovino y su comparación con la actividad enzimática en diferentes suelos y en humus de lombriz (sin formulante).

Enzima	Producción enzimas en fermentado de estiércol ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{ton}^{-1}$ de m.s. de fermentado)	Valores referenciales en suelos y bioinsumos sin formulante ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{ton}^{-1}$)	
Arilsulfatasa ¹	100.000	2.333	Ultisol sin labranza
Fosfatasa ácida ²	600.000	720.001	Ecosistema prístino
		58.333	Andisol / aplicación de Simazina
		44.833	Ultisol / labranza convencional
Fosfatasa alcalina ²	4.000.000		
L-asparaginasa	800.000	476	Humus de lombriz Best Garden
L-glutaminasa ⁴	2.000.000	243	Humus de lombriz Best Garden

¹ La actividad Arilsulfatasa se determinó de acuerdo a la metodología adaptada de los métodos descritos por Gonzales *et al.* (2003) y del método descrito por Fornasier *et al.* (2002)

² La actividad fosfatasa ácida y alcalina se determinó de acuerdo a la metodología propuesta por Vuorinen (1999)

³ La actividad de L-asparaginasa se determinó de acuerdo al método descrito por Frankenberger y Tabatabai (1991).

⁴ La actividad de L-glutaminasa se determinó de acuerdo al método descrito por Frankenberger y Tabatabai (1991)

Fuente: Rosas y López (2015)

Recomendación de análisis químicos, físicos y microbiológicos del bioestabilizado de acuerdo a la Norma Chilena 2880 para compost

Si bien, en Chile hay una norma sólo para compost, la NCh 2880, se pueden usar estos parámetros para evaluar la calidad de fermentados diferentes al compost, como los bioestabilizados. En la Tabla 4, se presenta una comparación de los valores de diferentes parámetros del bioestabilizado que se obtiene al fermentar guano de gallina con la máquina Koshin, con la NCh 2880 y otros fermentados.

Tabla 4. Comparación de parámetros químicos y físico de bioestabilizado de la empresa "AgroSepa" con la Norma Chilena de compost y con parámetros de guanos y fermentados disponibles en el mercado chileno en el 2024

Parámetros químicos y físicos	Guano avícola		Bioestabilizado de guano con maquina kohshin		Guano "NovaAgro"	Bioestabilizado de pavo	Estabilizado de guano de Pavo	Nch 2880	
	bps	bph	bps	bph				Clase A	Clase B
pH (1:5)	6,2		8,9		9,2	8,9	6,3	5,8	8,5
Conductividad Eléctrica (dS m ⁻¹) 1:5	17,6		23,9		12,7	9,4	13,9	<3	<8
Materia Orgánica (%)	78,4	21,3	39,2	32,2	51,0	49,7	68	>20	
Carbono Orgánico (%)	45,5	12,4	22,8	18,7	28,3	28,8	37,8	>11	
Relación C/N	14	14	11	11	9,1	6,7	12,7	<30	
Nitrógeno total (%)	3,2	0,9	2,2	1,8	3,12	4,3	2,97	>0,5	

Fuente: (Elaboración propia)

Continuación Tabla 4. Comparación de parámetros químicos y físico de bioestabilizado de la empresa "AgroSepa" con la Norma Chilena de compost y con parámetros de guanos y fermentados disponibles en el mercado chileno en el 2024

	Guano avícola		Bioestabilizado de guano con maquina kohshin		Guano "NovaAgro"	Bioestabilizado de pavo	Estabilizado de guano de Pavo	Nch 2880	
N amoniacal (%)						0,4689			
N nítrico (%)						0,0047			
Nitratos (N-NO ₃ %)	0,005	0,001					0,0161		
Amonio (N-NH ₄ %)(n amoniacal en la presentación)	0,38	0,1					0,5998	<0,05	
Fósforo total (%P ₂ O ₅)	2,7	0,7	3,7	3,0	5,0	2,71	2,7		
Fósforo soluble (%P ₂ O ₅)	0,18	0,05							
Potasio (%K ₂ O)	1,3	0,4	4,2	3,4	4,1	1,77	4,3		
Potasio soluble Mg kg ⁻¹					4379				
Calcio (%CaO)	5,5	1,5	18,3	15,0		3,29	3,4		
Calcio Soluble (mg kg ⁻¹)					98				
Magnesio (%)	0,5	0,1	1,3	1,0	0,00024	1,53	1,5		
Sodio (mg kg ⁻¹)	280	76	2482	2039	743	650			
Hierro (mg kg ⁻¹)	1271	345	2319	1906	4075	1326	3795		

Fuente: (Elaboración propia)

Continuación Tabla 4. Comparación de parámetros químicos y físico de bioestabilizado de la empresa "AgroSepa" con la Norma Chilena de compost y con parámetros de guanos y fermentados disponibles en el mercado chileno en el 2024

	Guano avícola		Bioestabilizado de guano con maquina kohshin		Guano "NovaAgro"	Bioestabilizado de pavo	Estabilizado de guano de Pavo	Nch 2880	
Manganeso (mg kg ⁻¹)	361	98	499	410	875	557	374		
Cinc (mg kg ⁻¹)	163	44	558	459	604	2736	540	200	800
Cobre (mg kg ⁻¹)	28	8	220	181	75	5970	252	70	400
Boro (mg kg ⁻¹)	25	7	62	51	122				
Mercurio (mg kg ⁻¹)					0,5		<0,01	0,4	2
Níquel (mg kg ⁻¹)							8,29	25	80
Plomo (mg kg ⁻¹)					12		15,9	45	220
Cromo (mg kg ⁻¹)									
Arsénico (mg Kg ⁻¹)					0,35		<0,01	15	33
Cadmio (Cd) (mg Kg ⁻¹)					<0,01		<0,01	0,7	9
Humedad (%)	--	72,8		17,8	37	46,9			
Materia seca (%)	--	27,2		82,2	63				
Densidad en seco (g cm ⁻³)	0,48	--	1,07						

Fuente: (Elaboración propia)

Ejemplo del efecto de un bioinsumo sobre el rendimiento de especies vegetales

Para determinar la efectividad de los fertilizantes y de los bioestimulantes se debe realizar ensayos de campo en diferentes especies, suelos y climas. Por lo tanto, se propone realizar ensayos experimentales para evaluar las propiedades fertilizantes de la formulación del bioestimulante, empleando el rendimiento del cultivo como parámetro principal (Hirzel, 2011). El experimento podría incluir un diseño de bloques al azar con varias dosis crecientes de la formulación. El objetivo sería medir el impacto en la producción de materia seca y extracción de nutrientes, comparando los resultados con tratamientos de control y fertilización convencional. Este enfoque permitirá determinar la eficiencia del bioestimulante en mejorar la disponibilidad de nutrientes esenciales y su capacidad para mantener la productividad del suelo a lo largo del ciclo del cultivo. Los resultados contribuirán a ajustar la formulación de manera que maximice el rendimiento del cultivo. En la Tabla 5, se presentan los principales análisis que se deberían realizar, los controles que se deben utilizar, resultados obtenidos y, un ejemplo de producción de materia seca, producto de la aplicación un bioestabilizado de guano de gallina.

Tabla 5. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de bioestabilizado de guano de pavo, en comparación con la fertilización convencional sobre el rendimiento de cultivo de *Zea mays*.

Parámetro medido	Tratamiento				
	Control	Fertilización Convencional	Bioestabilizado (15,33 ton ha ⁻¹)	Bioestabilizado (30,65 ton ha ⁻¹)	Bioestabilizado (61,31 ton ha ⁻¹)
Materia seca (ton/ha)	18,5 c	25,3 abc	20,9 bc	27,5 ab	30,5 a
N (%)	0,72 b	1,14 a	0,98 ab	0,97 ab	0,98 ab
P (%)	0,13 b	0,17 ab	0,16 ab	0,18 a	0,19 a
K (%)	0,68 c	0,76 bc	0,97 ab	1,03 ab	1,12 a
Ca (%)	0,13 a	0,16 a	0,11 a	0,12 a	0,12 a

Fuente: Elaboración propia

Continuación Tabla 5. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de bioestabilizado de guano de pavo, en comparación con la fertilización convencional sobre el rendimiento de cultivo de *Zea mays*.

Parámetro medido	Tratamiento				
	Control	Fertilización Convencional	Bioestabilizado (15,33 ton ha ⁻¹)	Bioestabilizado (30,65 ton ha ⁻¹)	Bioestabilizado (61,31 ton ha ⁻¹)
Materia seca (ton/ha)	18,5 c	25,3 abc	20,9 bc	27,5 ab	30,5 a
Mg (%)	0,13 a	0,13 a	0,12 a	0,12 a	0,12 a
S (%)	0,078 a	0,098 a	0,088 a	0,093 a	0,090 a
Fe (mg kg ⁻¹)	360 a	416 a	448 a	310 a	218 a
Mn (mg kg ⁻¹)	23,2 a	34,5 a	28,4 a	27,8 a	30,3 a
Zn (mg kg ⁻¹)	42,1 a	50,9 a	76,1 a	67,1 a	41,4 a
Cu (mg kg ⁻¹)	2,40 a	3,38 a	3,18 a	2,42 a	2,38 a
B (mg kg ⁻¹)	4,77 a	5,40 ab	6,13 a	5,78 ab	6,13 a

Letras distintas para una misma fila indican diferencia estadística según test de Tukey ($p < 0,05$).

Población a cosecha: 96.446 pl ha⁻¹

Fuente: Hirzel (2011) Informe técnico evaluación del bioestabilizado como fuente de fertilización en diferentes condiciones de cultivo, clima y suelos temporada 2010-2011

Las formulaciones de biofertilizantes, clasificadas en Chile como bioestimulantes, han mostrado un efecto positivo en el desarrollo y la salud de las plantas, contribuyendo a mejorar la fertilidad del suelo, estimular el crecimiento radicular y aumentar la eficiencia en la absorción de nutrientes (Garrido, 2017). Sin embargo, a pesar de estos beneficios, aún no han alcanzado la mayoría del mercado por estar aún en desarrollo de su escalamiento industrial y comercial (Bravo, 2023).

Estimación de costos de materias primas para producir un bioestimulante de acción de acondicionador de suelos

La fabricación del bioinsumo implica una inversión inicial cercana a 500.000.000 CLP para una producción de 108.000 kg de bioestabilizado, que abarca la construcción de infraestructura, la adquisición e instalación de la máquina Koshin y la habilitación de una bodega de almacenamiento. Entre los costos variables, el consumo de energía destaca como el gasto más significativo debido a su importancia en las operaciones productivas.

En cuanto a la materia prima en la Tabla 6 se presentan precios de guano de gallina y del producto final de la fermentación, los bioestabilizados.

Finalmente, en los costos fijos, el mayor componente corresponde a los salarios del personal técnico capacitado.

Tabla 6. Referencia de precios de guano de gallina y fermentados disponibles en el mercado chileno en 2024.

Empresa	Producto	Precio (CLP)	Peso
Servicios Pucalan	Guano Fresco de Gallina	9000 - 10.000	25 kg
Nova Agro	Bioestabilizado de Guano de Gallina	12000 - 15000	25 kg
AgroSepa	Bioestabilizado de guano de Gallina	3000 - 5000	25 kg
Servicios Pucalan	Bioestabilizado de Cerdo	8500 - 9000	25 kg

Fuente: (Elaboración propia, con información comercial)

CONCLUSIONES

Es fundamental emplear estrategias de manejo adecuado para reducir los impactos ambientales del uso de guano fresco y revalorizarlos a través de la producción de nuevas formulaciones bioestimulantes que reduzcan la necesidad de insumos externos y minimicen la lixiviación y pérdida de nutrientes.

La producción de fermentado y formulaciones avanzadas basadas en guano podría no solo mejorar la eficiencia de uso de los nutrientes, sino también reducir los costos operacionales, haciendo de esta práctica una opción más competitiva y sostenible a largo plazo.

RECOMENDACIONES

Propuesta de soluciones e innovaciones

Dado el análisis de las barreras operativas, ambientales y de eficiencia que enfrenta “AgroSepa” al utilizar guano de gallina fresca, se proponen estrategias innovadoras orientadas a mejorar los procesos de formulación, incrementar la eficiencia del producto y reducir los impactos ambientales. Estas innovaciones buscan transformar la práctica actual en una solución más rentable, competitiva y sostenible para la empresa.

Mejorar los procesos de fermentación y formulación del guano: La transformación del guano fresco en bioestimulantes fermentados permitirá controlar la liberación de nutrientes, evitar la volatilización del nitrógeno y aumentar la disponibilidad del fósforo. Esta mejora garantizará un suministro más eficiente y sostenido de nutrientes, optimizando el rendimiento de los cultivos y reduciendo la necesidad de aplicaciones frecuentes.

Reducir la conductividad eléctrica del fermentado mediante nanopartículas: La incorporación de alofán en las formulaciones reducirá la concentración de sales disueltas, minimizando el estrés osmótico en las plantas. Además, su capacidad para capturar enzimas y nutrientes mejorará la eficiencia del biofertilizante, potenciando su impacto en la fertilidad del suelo y la retención de agua.

Añadir valor complementando los análisis más allá tradicionales con indicadores de calidad de suelo y de biofertilidad. Se propone complementar las evaluaciones químicas tradicionales con pruebas de actividad enzimática, análisis de propiedades físicas del suelo y estudios sobre la capacidad de prevención de enfermedades fúngicas. Esta ampliación de los análisis ofrecerá un panorama más completo del desempeño del bioestimulante, demostrando su valor agregado en términos de salud del suelo.

Realizar evaluaciones de campo para desarrollar fichas técnicas competitivas: Las pruebas en condiciones reales permitirán recopilar datos precisos sobre el rendimiento del bioestimulante en distintos tipos de suelo y cultivos. Con esta información, “AgroSepa” podrá generar fichas técnicas detalladas, posicionando su producto de manera competitiva en el mercado y destacando sus ventajas frente a

otros biofertilizantes y fertilizantes convencionales.

Estas propuestas buscan convertir el uso del guano de gallina en una práctica más eficiente y sostenible, alineada con los principios de agricultura regenerativa. La combinación de fermentación avanzada, nanotecnología y evaluaciones especializadas permitirá a “AgroSepa” no solo reducir costos operacionales y minimizar riesgos ambientales, sino también ofrecer un producto innovador con alto valor agregado y diferencial competitivo en el mercado agrícola.

REFERENCIAS

1. Bhardwaj, A.K., D., Rajwar, N., Basak, N., Bhardwaj, S.K., Chaudhari, S., Bhaskar, P.C., Sharma. 2020. Mineralización y disponibilidad de nitrógeno en etapas críticas del cultivo de arroz (*Oryza sativa*) y su relación con la actividad biológica del suelo y la productividad del cultivo bajo los principales sistemas de gestión de nutrientes. *J Soil Sci Plant Nutr*.
2. Bravo Sepulveda, K. A. 2023. Formulaciones de biofertilizantes y efectos en la producción vegetal. (Tesis de pregrado). Universidad de Concepción, Concepción.
3. Cota-Ruiz, K., Y., Ye, C., Valdes, C., Deng, Y., Wang, J.A., Hernández-Viezcas, J.L., Gardea-Torresdey. 2020. Copper nanowires as nanofertilizers for alfalfa plants: Understanding nano-bio systems interactions from microbial genomics, plant molecular responses and spectroscopic studies. *Science of the Total Environment*, 742, 140572.
4. Frankenberger, W.T., M.A., Tabatabai. 1991. Factors affecting L-asparaginase activity in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 11, 1-5.
5. Frankenberger, W.T., M.A., Tabatabai. 1991. L-Glutaminase activity of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 23(9), 869-874.
6. Garrido Rivas, M. N. 2017. *Prueba de germinación de la formulación de un acondicionador de suelos*. (Tesis de pregrado). Universidad de Concepción, Concepción.
7. Hirzel, J. 2011. Informe técnico evaluación del bioestabilizado como fuente de fertilización en diferentes condiciones de cultivo, clima y suelos temporada 2010-2011.

8. Keeney, D. R., D.W., Nelson. 1982. Nitrogen—inorganic forms. *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties*, 9, 643-698.
9. Kumar, A., A., Choudhary, H., Kaur, S., Guha, S., Mehta, A., Husen. 2022. Potential applications of engineered nanoparticles in plant disease management: a critical update. *Chemosphere*, 295, 133798.
10. Parfitt, R. L. 1990. Allophane in New Zealand - A Review. *Australian Journal of Soil Research*, 28, 343–360.
11. Rosas, A., R., López. 2015. Proceso para la elaboración de un biofertilizante, que comprende fermentación en estado sólido, inmovilización a través de nanopartículas de alofán y una nueva fermentación; y biofertilizante. CO5F 3/02 2006.1. PCT/CL2014/000087. Chillán, Chile.
12. Sandoval, M., J., Fernández, O., Seguel, J., Cuevas, D., Becerra. 2011. Métodos de análisis físico de suelos. Sociedad Chilena de las Ciencia del Suelo. Financiada con recursos del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 75p.
13. Sharma, T. 2023. Nano-biofertilizers as bio-emerging strategies for sustainable agriculture development: Potentiality and their limitations.
14. Tabatabai, M. A. 1982. Soil enzymes. *Methods of Soil Analysis*, Part 2.
15. Tabatabai, M. A., J.M., Bremner. 1970. Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America Journal*, 34(2), 225-229.
16. Trasar-Cepeda, C., M.C., Leirós, F., Gil-Sotres. 2008. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2146-2155.
17. Vance, E. D., P.C., Brookes, D.S., Jenkinson. 1987. Microbial biomass measurements in forest soils: determination of kc values and tests of hypotheses to explain the failure of the chloroform fumigation-incubation method in acid soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(6), 689-696.
18. Varnero, M. T., C., Rojas. R., Orellana. 2007. Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Ciencia e Investigación Agraria*, 34(1), 41-50.
19. Vuorinen, A. H. 1999. Phosphatases in horse and chicken manure composts. *Compost Science & Utilization*, 7(2), 47-54.

20. Zucconi, F., A., Pera, M., Forte, M., De Bertoli. 1981. Evaluating toxicity in immature compost. *Biocycle*, 22, 54-57.