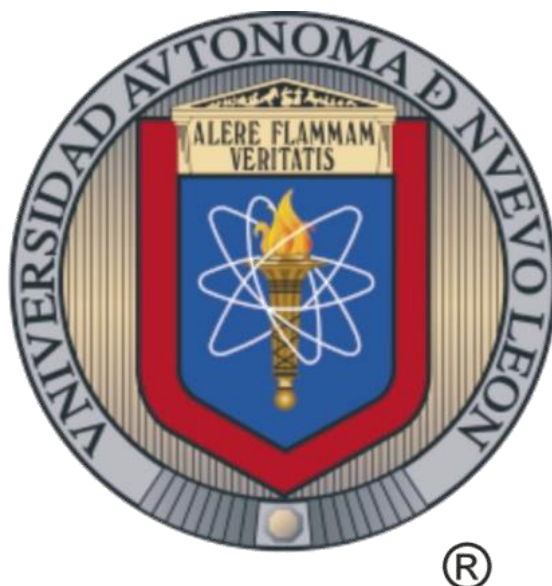


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**PREPARADOS BIODINÁMICOS EN PILAS ESTÁTICAS DE  
COMPOSTAJE DE RESTOS DE CULTIVOS REGIONALES**

**PRESENTA**

**HEBERTO ANTONIO RODAS GAITÁN**

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR  
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**MARZO, 2019**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**PREPARADOS BIODINÁMICOS EN PILAS ESTÁTICAS DE  
COMPOSTAJE DE RESTOS DE CULTIVOS REGIONALES**

**PRESENTA**

**HEBERTO ANTONIO RODAS GAITÁN**

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR  
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**GENERAL ESCOBEDO, NUEVO LEÓN, MÉXICO**

**MARZO DE 2019**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**TESIS**

**PREPARADOS BIODINÁMICOS EN PILAS ESTÁTICAS DE  
COMPOSTAJE DE RESTOS DE CULTIVOS REGIONALES**

**PRESENTA**

**HEBERTO ANTONIO RODAS GAITÁN**

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR  
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**GENERAL ESCOBEDO, NUEVO LEÓN, MÉXICO**

**MARZO DE 2019**

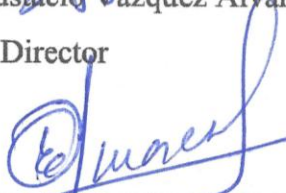
ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS  
COMITÉ PARTICULAR



---

PhD Rigoberto Eustacio Vázquez Alvarado

Director



---

PhD Emilio Olivares Sáenz

Co-Director

---

Dra Juana Aranda Ruiz

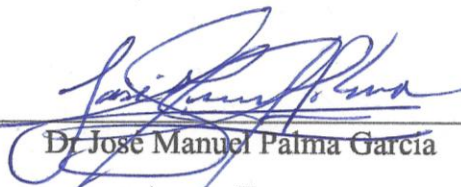
Asesor Interno



---

Dr Vladimir Gutiérrez Castorena

Asesor Interno



---

Dr José Manuel Palma García

Asesor Externo

---

PhD Juan Antonio Vidales Contreras

Subdirector de Posgrado e Investigación

## DEDICATORIAS

A Dios Todopoderoso, por darme el regalo de la vida y oportunidad de disfrutar cada día haciendo lo que me gusta y estar cerca de personas amadas.

A mi esposa, Malgorzata Anna Liszt, por acompañarme en cada momento de la vida y ser quien está al lado mío día a día, superando obstáculos, disfrutando de las maravillas que se nos atraviesan a diario y viviendo juntos con mucho amor.

A mis hijos, Daniel Antonio y Pauline Ana, por ser los angelitos que Dios nos envió y a quienes día a día me entregaré con mucho amor. Por ser la fuente de inspiración y lucha hacia un futuro mejor para las nuevas generaciones.

A mi madre, Rosa Lidia Gaitán, por guiarme desde niño con sus consejos y amor. Por esforzarse tanto para darme lo mejor de este mundo y ser un gran ejemplo de superación e inspiración. Este es otro de sus triunfos madrecita linda. Y aunque no lo pueda ver por el momento, algún día sabrá todo los logros que he tenido gracias a usted.

A mi tía, Elba Aurora Gaitán, que ha sido como mi madre, siempre ha estado en cada momento de mi vida, apoyándome y escuchándome. Ha sido un ángel que ha cuidado y velado por toda la familia.

A mi hermano, Julio Rodas, Zully, María Fernanda y María Reneé, por estar siempre a mi lado y dejarme sentir todo su amor, apoyo y ánimo.

A la familia Gaitán, Rodas y Liszt, por todo su cariño y ánimo a seguir siempre para adelante.

## **AGRADECIMIENTOS**

PhD Rigoberto Eustacio Vázquez Alvarado, por su valiosa asesoría y creer en el proyecto, quien no solamente me guió en la realización del presente trabajo, sino hacia la superación de un proyecto sustentable a favor de las nuevas generaciones.

Dra Juanita Aranda, Dr Edgar Gutiérrez y Dr José Manuel Palma, por brindarme el apoyo en el trabajo realizado e impulso a la superación académica y principios morales.

A cada uno de mis catedráticos, por transmitirme toda su experiencia y conocimientos invaluable y que servirán en cada momento de mi vida profesional.

A Jorge Garza, por todo el ánimo de cada mañana en el laboratorio y dar una sonrisa a los momentos difíciles.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado e impulso a la superación personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo de beca para estudios de posgrado, a través del cual fue posible la realización de la presente investigación y la obtención del grado.

## INDICE GENERAL CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL DE TESIS.....	1
HIPÓTESIS GENERAL DE TESIS.....	3
OBJETIVOS GENERALES DE TESIS.....	4
1. Resumen .....	6
2. Introducción.....	7
3. Materiales y métodos .....	8
4.1. Localización del experimento .....	8
4.2. Material biológico.....	8
4.3. Compostaje en pilas estáticas.....	8
4.4. Análisis químicos, físicos y biológicos en pilas de composta .....	9
4.5. Parámetros químicos.....	9
4.6. Parámetros físicos .....	10
4.7. Parámetros biológicos.....	10
4.8. Análisis Estadístico.....	10
4. Resultados y discusión.....	11
5. Conclusiones .....	16
6. Literatura citada .....	17
Artículo publicado en Revista Mexicana de Ciencia Agrícolas (REMEXCA)	
Estabilidad de compostas estáticas biodinámicas a partir de restos de cultivos regionales .....	21

## INDICE DE CUADROS CAPÍTULO I

Cuadro 1. Variables con diferencia significativa (*P<0.05) y altamente significativa (**P<0.01) en los factores principales (Preparados Biodinámicos y Sustrato). .....	12
---	----

## INDICE DE FIGURAS CAPÍTULO I

Figura 1. Variables físicas y químicas con interacción significativa (*P<0.05) y altamente significativa (**P<0.01) en los factores evaluados (Preparados Biodinámicos x Sustrato). Fuente: datos obtenidos de campo y laboratorio (FAUANL), 2016-2017. Procesador: SigmaPlot 10.0. ....	11
Figura 2. Concentración inicial y final (un año) de macro- y microelementos en compostas estáticas, considerando nopal y moringa como sustratos principales y la inclusión de preparados biodinámicos (PB). Comparación estadística únicamente entre concentraciones finales. Barras sin letras son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05). Fuente: datos obtenidos de laboratorio (FAUANL), 2016-2017. Procesador: SigmaPlot 10.0. ....	14
Figura 3. Análisis de componentes principales para las variables físicas, químicas y biológicas de compostas estáticas. PB: preparados biodinámicos, N: nitrógeno, P: fósforo, K: potasio, Ca: calcio, Mg: magnesio, Cu: cobre, Zn: zinc, Fe: hierro, Mn: manganeso, Temp: temperatura máxima, Bact: bacterias totales, Hongos/Lev: hongos/levaduras totales, MO: materia orgánica, H: hidrógeno, C:N: relación carbono:nitrógeno. Fuente: datos obtenidos de campo y laboratorio (FAUANL), 2016-2017. Procesador: SigmaPlot 10.0. ....	16



## INDICE GENERAL CAPÍTULO II

7. Resumen .....	30
8. Introducción .....	31
9. Materiales y Métodos .....	33
9.1. Ubicación del experimento.....	33
9.2. Material biológico .....	33
9.3. Compostas estáticas .....	33
9.4. Análisis químicos, físicos y biológicos de pilas de compost. ....	34
9.4.1. Parámetros físicos.....	35
9.4.2. Parámetros químicos .....	35
9.4.3. Parámetros biológicos .....	35
9.5. Diseño y análisis estadístico.....	36
10. Resultados .....	36
10.1. Parámetros físicos .....	36
10.2. Parámetros químicos .....	39
10.3. Parámetros biológicos.....	42
10.4. Interacción de variables físicas, químicas y biológicas a través de un PCA .....	45
11. Discusión .....	46
11.1. Parámetros físicos .....	46
11.2. Parámetros químicos .....	48
11.3. Parámetros biológicos.....	49
11.4. Interacción de variables físicas, químicas y biológicas a través de un ACP. ....	51
12. Conclusiones .....	51

13. Agradecimientos .....	51
14. Referencias .....	52
Versión final de artículo aceptado en revista Open Agriculture.....	57
Carta de aceptación de artículo en revista Open Agriculture.....	83

## INDICE DE CUADROS CAPÍTULO II

Cuadro 2. Identificación de los preparados biodinámicos y descripción de sus componentes.	33
Cuadro 3. Hongos, levaduras y bacterias totales (UFC g <sup>-1</sup> compost) en sustratos principales utilizados en pilas estáticas y preparados biodinámicos.	43

## INDICE DE FIGURAS CAPÍTULO II

Figura 4. Temperatura media de las pilas estáticas (T1 ● nopal de nopal + PB; T2 x moringa + PB; T3 ▲ de nopal; T4 ■ moringa) por capa en las fase más activa (100 días). Las medias (±SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (prueba de Tukey, p <0.05).	38
Figura 5. Humedad de las pilas estáticas (T1 ● nopal de nopal + PB; T2 x moringa + PB; T3 ▲ de nopal; t4 ■ moringa) durante 100 días de análisis. Las medias (± SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (prueba de Tukey, p <0.05).	39
Figura 6. pH y conductividad eléctrica (CE) de pilas estáticas (T1 ● nopal de nopal + PB; T2 x moringa + PB; T3 ▲ de nopal; T4 ■ moringa) durante 100 días de análisis. Las medias (± SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (prueba de Tukey, p <0.05).	40
Figura 7. Materia orgánica (MO), nitrógeno (N) y relación C:N de pilas estáticas (T1 ● nopal + PB; T2 x moringa + PB; T3 ▲ nopal; T4 ■ moringa) durante 100 días de análisis. Las medias (± SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (prueba de Tukey, p <0.05).	41

Figura 8. Concentración de macro- y microelementos después de 100 días de compostaje y su interacción significativa (\*p<0.05) y altamente significativa (\*\*p<0.01) entre factores evaluados (PB: preparados biodinámicos y sustratos principales). Medias fueron calculadas a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. .... 42

Figura 9. Compuesto total de CFU g-1 de bacterias, mohos y levaduras en pilas estáticas (T1 ● nopal de nopal + PB; T2 √ moringa + PB; T3 ▲ de nopal cactus; T4 ■ moringa) durante 65 días de análisis. Las medias (± SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (test de Tukey, p <0.05). .... 44

Figura 10. Análisis de componentes principales de variables físicas, químicas y biológicas de pilas estáticas. PB: preparaciones biodinámicas, N: nitrógeno; P: fósforo; K: potasio, Ca: calcio, Mg: magnesio, Cu: cobre, Zn: zinc, Fe: hierro, Mn: manganeso..... 45

## INTRODUCCIÓN

Debido al aumento poblacional durante las últimas décadas, la demanda alimenticia impulsa esfuerzos para incrementar la producción agrícola por unidad de área. Dichas demandas obligan al aumento en el uso de tecnologías (desarrollo de nuevas variedades, modificación genética, maquinaria) e insumos agrícolas. El sector industrial persigue el objetivo de cubrir dichas demandas, generando ingresos económicos cada vez más altos, sin tomar en cuenta algunos factores que pueden provocar un efecto negativo o deterioro al ambiente, en la salud humana, salud animal y en los suelos (repercutiendo en la reducción de la sustentabilidad). Ante tal situación, desde los años 1920s surgen movimientos como la agricultura biodinámica (AB), ecológica, permacultura, los cuales se basan en diversos principios, teniendo como finalidad común la búsqueda de una producción sustentable de alimentos y alternativa a la producción convencional.

La AB es considerada como la primera organización a nivel mundial, encargada de promover la agricultura orgánica, basada en el “Curso de Agricultura Biológico-Dinámica”, impartido por el filósofo austríaco Rudolf Steiner en 1924. Dicho sistema considera prácticas similares con los movimientos anteriormente mencionados, tales como la rotación de cultivos, uso de compostaje de residuos orgánicos, mejoramiento de propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Sin embargo, se considera como uno de los aspectos clave en la metodología biológico-dinámica, el uso de ocho preparados biodinámicos (PB) que son aplicados al suelo, los cultivos y el compost. Los PB para el compost son órganos de plantas fermentados en suelo (PB502 – PB506) u obtenidos por extracción (PB507) que son aplicados en tasas de entre 1 y 5 g por unidad de compostaje (10-15 m<sup>3</sup>). Los PB para el campo son aplicados en tasas de 100 g ha<sup>-1</sup> (BP 500) y 2-4 g ha<sup>-1</sup> (BP 501). Los PB promueven la

aceleración de la descomposición del material orgánico, actividad microbiológica con beneficios de acuerdo a la producción de enzimas necesarias para fijar nitrógeno, solubilizar fósforo, producción de sideróforos, procesos catabólicos de compuestos de carbono. El segundo aspecto clave en la AB es el uso de compostas, por medio de las cuales se aportan o complementan los elementos esenciales a las plantas y se mejoran las propiedades físicas (densidad aparente, temperatura, humedad), químicas (macro y microelementos aportados de acuerdo al material de origen, capacidad de intercambio catión) y biológicas (bacterias/hongos endofíticos y de vida libre con capacidades de biocontrol, solubilización de elementos como el fósforo, producción de fitohormonas como AIA y ACC desaminasa) del suelo.

Debido a los diversos beneficios de los materiales orgánicos en los sistemas de producción agropecuaria, estos pueden ser empleados en fincas con certificación orgánica o convencional. De acuerdo al sistema en que se desea incorporar el material (suelo, planta), así deberá ser considerado su manejo para el incremento de beneficios y propiedades. El empleo de enmiendas orgánicas para el suelo, tales como lombricompostas, compostas, lixiviados o té de compost reducen o sustituyen los fertilizantes sintetizados (alto costo y contaminación del ambiente por uso inmoderado). Sin embargo, su eficiencia depende de la caracterización del material original, conocer su dinámica y momento de aplicación, así como las propiedades de los suelos y en las plantas donde se desean aplicar. El compostaje, además de ser un método para el manejo de las crecientes cantidades de residuos orgánicos disponibles (provenientes de la industria o sector agrícola), reduce los olores provenientes de una descomposición incontrolada, contaminación ambiental y potencial de microorganismos patogénicos para el humano. Dentro de las técnicas de compostaje se encuentra el manejo bajo pilas estáticas, el cual considera la construcción de las pilas (dimensiones, tubos de aireación, materiales empleados, densidad entre diferentes capas) para reducir la necesidad de volteos, con

reducción en energía y costos. En ambos sistemas, con y sin volteos, deben de ser considerados y controlados los siguientes factores durante el proceso: relación carbono:nitrógeno (C:N), contenido de humedad, tasa de aireación, densidad aparente, y costo de energía.

La demanda de los productos de origen animal y/o vegetal (dependiente de la región), repercute directamente en el incremento de los sistemas de producción y a su vez, los desechos obtenidos a partir de éstos. De acuerdo a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, 2017), en México hay alrededor de 30 mil ha de producción de nopal (verdura y forraje) equivalente a una producción de alrededor de un millón de toneladas. Al momento de renovación de las plantas madres, se tienen residuos que frecuentemente son empleados para alimentación animal. Sin embargo, dependiendo de la distancia de transporte, calidad y precio de otros alimentos para rumiantes, así será su factibilidad para ser empleado como alimento animal o en su defecto, realizar una transformación hacia una enmienda que incremente la fertilidad del suelo. La producción de moringa a nivel nacional es de alrededor de 430 ha e incrementa gracias a la demanda de sus propiedades benéficas en la salud (hojas con concentraciones considerables de antioxidantes, entre los cuales destacan los isotiocianatos, relacionados a propiedades anticancerígenas, hipotensoras, hipoglucemiantes y antibióticas). En el caso de los diversos productos obtenidos del ganado bovino, el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera reporta una producción nacional de alrededor de dos millones de toneladas de carne en canal y doce millones de litros de leche. Asimismo, para el caso de avicultura, se reportan 1,700 millones de animales sacrificados (pollo, gallina ligera y pesada que ha finalizado su ciclo productivo) para carne en canal y 2.8 millones de toneladas de huevo para plato (cierre 2017). Los números anteriores reflejan la importancia de este tipo de producción pecuaria y la potencial

cantidad de estiércol (bovinaza y gallinaza) obtenida de los animales destinados para cada uno de los sectores anteriormente mencionados.

La presente investigación surgió como búsqueda de una alternativa al manejo de residuos de nopal y moringa (cultivos de importancia regional). Se consideró el compostaje en forma estática y adicional a los sustratos principales, gallinaza y bovinaza (relación 1:1). Además, se evaluaron los preparados biodinámicos en las compostas, como una de las bases de la agricultura biodinámica.



## **HIPÓTESIS DE TRABAJO**

La mineralización de las compostas estáticas a partir de restos de nopal y moringa se ve beneficiada a través del uso de preparados biodinámicos, por lo tanto, el uso de estos productos incrementa la calidad nutricional de las compostas.

## **OBJETIVO**

Evaluar la aplicación de preparados biodinámicos en compostas estáticas a partir de restos de nopal y moringa, como residuos de cultivos de importancia regional.

# CAPÍTULO I: ESTABILIDAD DE COMPOSTAS ESTÁTICAS BIODINÁMICAS A PARTIR DE RESTOS DE CULTIVOS REGIONALES

## 1. Resumen

La elaboración de compostas a partir de residuos agrícolas permite generar una alternativa en la producción de abonos orgánicos. Tradicionalmente el volteo constante, hace oneroso este sistema, por lo que la producción de compostas estáticas asociadas a la aplicación de preparados biodinámicos (PB), promueve el desarrollo de alternativas sustentables. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la inclusión de PB (base fundamental de la agricultura biodinámica) en compostas estáticas de restos de nopal y moringa como sustratos principales, estableciendo un experimento con un diseño completamente al azar y arreglo bifactorial, en Zuazua, Nuevo León. Se consideraron cuatro tratamientos: T1, nopal+PB; T2, moringa+PB, T3, nopal y T4, moringa. Asimismo, la estabilidad de las compostas fue evaluada durante un año; a través, del comportamiento de 16 variables (físicas, químicas y biológicas). Las interacciones significativas mostraron que el uso de nopal y aplicación de PB en las compostas, promovieron en general una mayor mineralización, temperatura y menor humedad. De acuerdo a la significancia estadística de los factores principales, en tratamientos con PB se encontraron los máximos valores de UFC de bacterias y en tratamientos con nopal los mayores valores de materia orgánica, relación C:N e hidrógeno. La concentración de macro- y microelementos incrementó en cada tratamiento al final del período evaluado, con excepción del N, K y Cu. La descomposición de los sustratos principales regionales empleados en las pilas estáticas fue favorecida por la inclusión de PB.

**Palabras clave:** *Moringa oleífera* Lam, *Opuntia ficus indica* L. Mill., agricultura biodinámica.

## 2. Introducción

El aumento poblacional durante las últimas décadas conlleva al incremento de la demanda de alimentos, provocando a su vez mayores cantidades de residuos orgánicos provenientes del sector agrícola o industrial. El manejo incontrolado de éstos dirige hacia un proceso de contaminación, incluyendo los mantos freáticos, atmósfera y suelo, debido a la lixiviación de minerales indeseados, gases efecto invernadero o químicos contenidos en los residuos. Una de las estrategias para el manejo de la materia orgánica es el compostaje, definido como la transformación de ésta en compuestos más estables en un proceso controlado y bajo condiciones aeróbicas (Hubbe *et al.*, 2010). Además, las condiciones dentro de las pilas de compostaje reducen el potencial de microorganismos patógenos (Storino *et al.*, 2016), el producto obtenido es de alto valor y funciona como enmienda del suelo al mejorar sus características físicas, químicas y biológicas.

Dentro de los métodos de compostaje, el manejo como pilas estáticas puede alcanzar la mayor reducción en energía y costos, debido a que no son necesarios los volteos (Hubbe *et al.*, 2010; Nasini *et al.*, 2016). El manejo y uso eficiente de compostas no solamente es la base de la fertilidad de los suelos en la agricultura sostenible, sino forma parte del conjunto de componentes indispensables manejados dentro del enfoque de la agricultura biodinámica (Demeter International, 2004).

La biodinámica (AB) surge durante la primera mitad de la década de los 20 (Steiner, 1988), considerada como una forma de producción agrícola alternativa, bajo un sistema cerrado, donde la inclusión de animales de granja y plantas es necesaria para obtener biofertilizantes y enmiendas de suelo. El uso de preparados biodinámicos (PB) y composta se consideran como base fundamental de la AB. Los seis PB que son empleados en la composta, pasan por un período de fermentación de seis meses a un año y posteriormente son aplicados en

proporciones de 5-15 cm<sup>3</sup> para 14 t de materia prima (Steiner, 1988; Zaller y Köpke, 2004). Las compostas con PB muestran contenidos superiores de nitrógeno, temperaturas, actividad de enzima deshidrogenasa, mayor actividad microbiana, capacidad de retención de nutrientes, población de microorganismos, en contraste con la composta sin tratamiento (Carpenter-Boggs *et al.*, 2000; Reeve *et al.*, 2010; Sradnick *et al.*, 2013).

La AB considera el aprovechamiento de recursos regionales para la producción agropecuaria y toma como base la conservación de la fertilidad del suelo. Por lo tanto, se planteó como propósito de la presente investigación evaluar la inclusión de los PB en el proceso de compostaje estático, de residuales de nopal (*Opuntia ficus indica* L. Mill.) y moringa (*Moringa oleifera* Lam.).

### **3. Materiales y métodos**

#### **4.1. Localización del experimento**

El experimento se realizó en la finca orgánica “Zu-Nopalito” (certificada por BioAgriCert), localizada en Zuazua, Nuevo León (25° 53' latitud norte, 100° 02' longitud oeste). Se encuentra alrededor de 355 msnm y una precipitación anual de 520 mm.

#### **4.2. Material biológico**

El nopal y moringa utilizados como sustratos principales en el proceso de compostaje, se obtuvieron de la finca orgánica ‘Zu-Nopalito’ y de los invernaderos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL), respectivamente. Los PB fueron adquiridos de la finca certificada Demeter ‘El Equimite (Demeter International, 2004).

#### **4.3. Compostaje en pilas estáticas**

La construcción de las pilas se basó en el criterio principal de relación C:N inicial 20:1. Cada uno de los dos sustratos principales fue mezclado con estiércol vacuno/gallinaza (1:1), como

fuelle de nitrógeno. Las dimensiones por pila fueron de aproximadamente 2.25, 0.90 y 1.30 m de largo, alto y ancho, respectivamente. Para el sistema de aireación pasivo, se emplearon tubos de PVC (3" diámetro), con agujeros (3/4" pulgada) cada 10 cm, colocados transversalmente en la base de las pilas de composta. Para el experimento fueron construidas cuatro pilas de composta, dos de nopal y otras dos de moringa, como sustratos principales. De las pilas con el mismo sustrato, a una se le dio el tratamiento con PB y la otra funcionó como testigo, sin PB (T1, Nopal+PB; T2, Moringa+PB; T3, Nopal; T4, Moringa).

#### **4.4. Análisis químicos, físicos y biológicos en pilas de composta**

Se monitorearon 16 variables en el tiempo (octubre 2016-octubre 2017). Para la toma de muestras se consideró la media profundidad y la longitud total de las pilas.

#### **4.5. Parámetros químicos**

Los sustratos principales y el material composteado (un año) fueron analizados obteniendo una muestra compuesta (cinco submuestras) y cuantificada en triplicado. Además, se analizó el agua de riego para poder determinar el aporte nutrimental por parte de ésta.

Para el análisis de carbono (C) e hidrógeno (H), las muestras fueron secadas a temperatura constante de 60°C por 24 h y determinados mediante el método de Dumas (combustión seca), utilizando un analizador TruSpec (LECO, 2016). La materia orgánica (MO) fue obtenida multiplicando el C orgánico por un factor de 1.72 (Vos *et al.*, 2007). El nitrógeno total (N) fue cuantificado con el procedimiento de digestión Kjeldahl (Etheridge *et al.*, 1998). La determinación del contenido de fósforo (P) fue realizado por el método vanadato-molibdato y el uso de un espectrofotómetro Spectronic®, modelo Helios Epsilon (USA) (Krey *et al.*, 2013). El potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), cobre (Cu), zinc (Zn), hierro (Fe) y manganeso (Mn) fueron determinados por espectroscopia de absorción atómica (UNICAM Solar®, modelo 9626).

#### **4.6. Parámetros físicos**

La temperatura y humedad se monitorearon semanalmente durante las primeras 14 semanas, considerando cinco muestras por composta. Para el registro de temperatura, se colocaron cinco termómetros para la medición al centro y a lo largo de las pilas. El porcentaje de humedad fue determinado tras el secado a temperatura constante de 105°C por 24 h (Escudero *et al.*, 2012).

#### **4.7. Parámetros biológicos**

Las poblaciones de bacterias y hongos/levaduras fueron cuantificadas cada cuatro semanas durante la fase más activa del proceso de compostaje (14 semanas). Se extrajeron cinco muestras del centro y a lo largo de cada pila y posteriormente almacenadas a 4°C hasta su análisis. Las muestras fueron preparadas en diluciones de 1:10<sup>6</sup> y 1:10<sup>7</sup> para cuantificar el crecimiento de hongos/levaduras y bacterias, respectivamente. La inoculación de 1 mL por muestra fue realizada en placas 3M™ Petrifilm™. Para hongos/levaduras, las placas 3M Petrifilm RYM fueron incubadas a 28°C±2 °C durante cinco días. Para bacterias, las placas 3M Petrifilm AC fueron incubadas a 35°C±2 °C durante 48 h.

#### **4.8. Análisis Estadístico**

El experimento fue establecido bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2, siendo uno de los factores principales el uso de PB con dos niveles (con, sin PB) y el otro factor el tipo de sustratos con dos niveles (nopal, moringa). Los datos obtenidos de las variables en los diferentes puntos de muestreo fueron sometidos a un análisis de varianza (Anva) de una vía. En caso necesario, se realizó la transformación arcoseno previo al Anva. La comparación de medias fue realizada empleando la prueba de honestidad de la diferencia significativa de Tukey ( $p < 0.05$ ). Adicionalmente, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para encontrar la relación entre las variables físicas, químicas y biológicas

en el proceso de compostaje y su asociación con los distintos tratamientos. Los análisis estadísticos fueron realizados por medio del paquete estadístico SPSS 17.0.

#### 4. Resultados y discusión

Por medio del Anva se encontró interacción altamente significativa de los factores evaluados (PB x Sustrato) para las variables temperatura, K, Mg, Cu, Fe, Mn y una interacción significativa para humedad, N, P, Ca y Zn. La aplicación de los PB en las compostas indujo el aumento de temperatura, reducción de humedad y en general, la disminución de la concentración final de los elementos anteriormente mencionados (Figura 1).

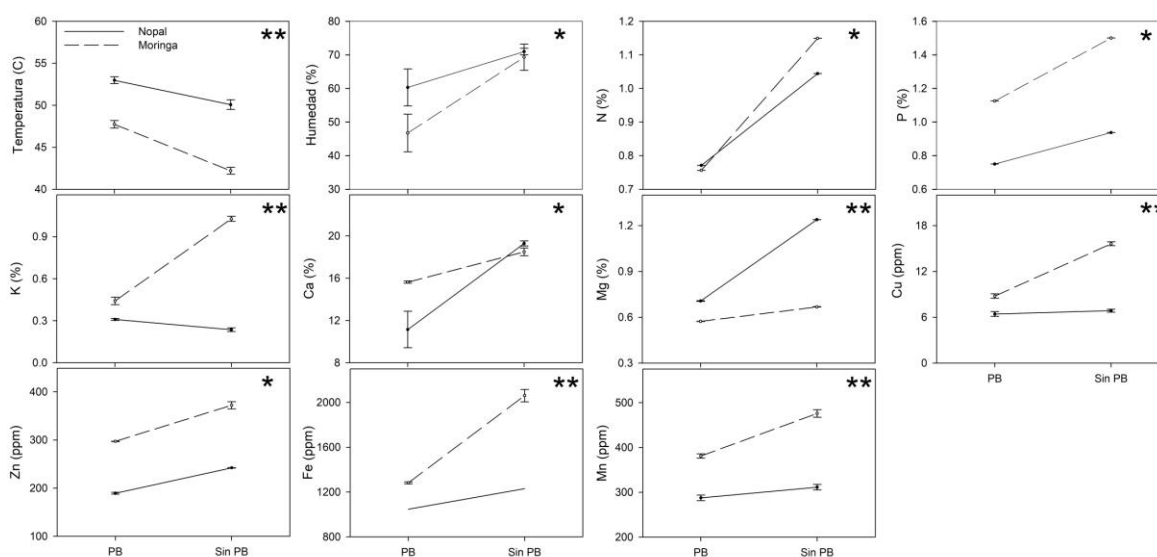


Figura 1. Variables físicas y químicas con interacción significativa (\* $P < 0.05$ ) y altamente significativa (\*\* $P < 0.01$ ) en los factores evaluados (Preparados Biodinámicos x Sustrato).

Fuente: datos obtenidos de campo y laboratorio (FAUANL), 2016-2017. Procesador: SigmaPlot 10.0.

En caso del factor principal -PB-, se encontró diferencia altamente significativa para la variable bacterias y únicamente significativo para relación C:N, en donde los tratamientos con

inclusión de PB mostraron los máximos valores. Para el factor principal -sustrato-, se encontró una diferencia altamente significativa para MO, relación C:N e H, donde los tratamientos con nopal mostraron los máximos valores (Cuadro 1). La variable hongos/levaduras no presentó diferencia estadística significativa entre tratamientos ( $4.97 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^9$ ,  $4.75 \times 10^9 \pm 1.83 \times 10^9$ ,  $6.77 \times 10^9 \pm 8.99 \times 10^8$  y  $5.18 \times 10^9 \pm 6.11 \times 10^8$  UFC totales, para T1, T2, T3 y T4, respectivamente).

Cuadro 1. Variables con diferencia significativa (\*P<0.05) y altamente significativa (\*\*P<0.01) en los factores principales (Preparados Biodinámicos y Sustrato).

Factor	Inclusión	Bacterias	C:N <sup>††</sup>	MO <sup>¶</sup> (%)	H <sup>¶¶</sup> (%)
ANVA	PB/Sustrato	(UFC <sup>†</sup> totales)			
PB	Con PB	$1.61 \times 10^8 \pm 2.05 \times 10^7$ a**	$11.66 \pm 4.59$ a*	$24.08 \pm 5.10$ a	$1.62 \pm 0.35$ a
	Sin PB	$1.27 \times 10^8 \pm 1.64 \times 10^7$ b	$9.30 \pm 3.18$ b	$26.96 \pm 4.92$ a	$1.81 \pm 0.27$ a
Sustrato	Nopal	$1.54 \times 10^8 \pm 1.92 \times 10^7$ a	$13.78 \pm 2.25$ a**	$29.65 \pm 2.64$ a**	$1.92 \pm 0.16$ a**
	Moringa	$1.37 \times 10^8 \pm 2.87 \times 10^7$ a	$7.18 \pm 0.85$ b	$21.40 \pm 2.64$ b	$1.42 \pm 0.24$ b

Medias con letras iguales por factor y por columna, no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). <sup>†</sup>Unidades formadoras de colonias; <sup>††</sup>Relación carbono:nitrógeno; <sup>¶</sup>Materia orgánica; <sup>¶¶</sup>Hidrógeno. Fuente: datos obtenidos de laboratorio FAUANL (2017).

Los resultados de temperatura obtenidos concuerdan con Zaller y Köpke (2004); Reeve *et al.* (2010), quienes reportaron temperaturas superiores en las pilas inoculadas con PB, en comparación con los controles (sin PB). Además, indican mayor actividad microbiana en las primeras, sugerido por la mayor actividad de la enzima deshidrogenasa. El incremento en temperatura es el producto de la descomposición de la materia orgánica, como reflejo de la



actividad microbiana, lo cual a su vez disminuye la humedad y la concentración de elementos, tales como el C, H y O (Singh *et al.*, 2016).

Los valores de MO al final del período evaluado no mostraron diferencia significativa entre tratamientos con y sin PB (Cuadro 1). Sin embargo, el porcentaje de pérdida de carbono (a lo largo del período de evaluación) reflejó la mayor actividad de descomposición del material orgánico en aquellas pilas con PB (54 y 64% para T1 y T2, respectivamente), en contraste con las pilas sin PB (50 y 57% para T3 y T4, respectivamente).

El porcentaje de humedad alcanzado se encuentra dentro del rango adecuado para la actividad microbiana (Tang *et al.*, 2006), éste es un parámetro crítico para la optimización de dichos sistemas (Luo *et al.*, 2008), el cual depende de la correcta selección y proporción de mezcla de los materiales. Los puntos máximos de temperatura alcanzados fueron de 58, 55, 59 y 56°C para el T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Tales valores garantizan el control de patógenos para humanos (Storino *et al.*, 2016).

En el Cuadro 1 se observa que la relación C:N de los cuatro tratamientos se mantuvo entre valores de 7:1 y 14:1. Nair y Delate (2016) sugieren valores entre 10-15:1, como óptimos para compostas maduras a ser aplicadas en campo. El ajuste de la relación C:N inicial en las compostas de la presente investigación (20:1) se calculó de acuerdo a los valores iniciales de los sustratos principales, siendo éstos de 24.88, 36.67, 8.02 y 13.77 para nopal, moringa, gallinaza y bovinaza, respectivamente. Éste parámetro es uno de los más importantes para el desarrollo de un proceso de compostaje (Guo *et al.*, 2012).

El período más activo del proceso de compostaje (fase mesofílica y termofílica) fue durante las primeras 14 semanas. Período donde se obtuvieron los máximos valores de temperatura, UFC de bacterias y hongos/levaduras.

En la Figura 2, se observa la comparación de las concentraciones de elementos de las mezclas iniciales y las pilas de composta maduras (un año). La concentración de N disminuyó hacia el final del proceso en todos los tratamientos, al igual que los valores de K y Cu (excepto para el T4). La concentración de P, Ca, Mg, Zn, Fe y Mn en las compostas maduras incrementó, debido a la disminución característica del volumen del material en descomposición (Oliveira *et al.*, 2017) y al aporte de macroelementos por parte del agua de riego (Ca, 11.48 meq L<sup>-1</sup>; Mg, 7.71 meq L<sup>-1</sup>). En el T4 se encontró la menor concentración de microorganismos y temperatura, por ende, un menor grado de descomposición y mineralización, manteniendo los minerales fijados en el material original.

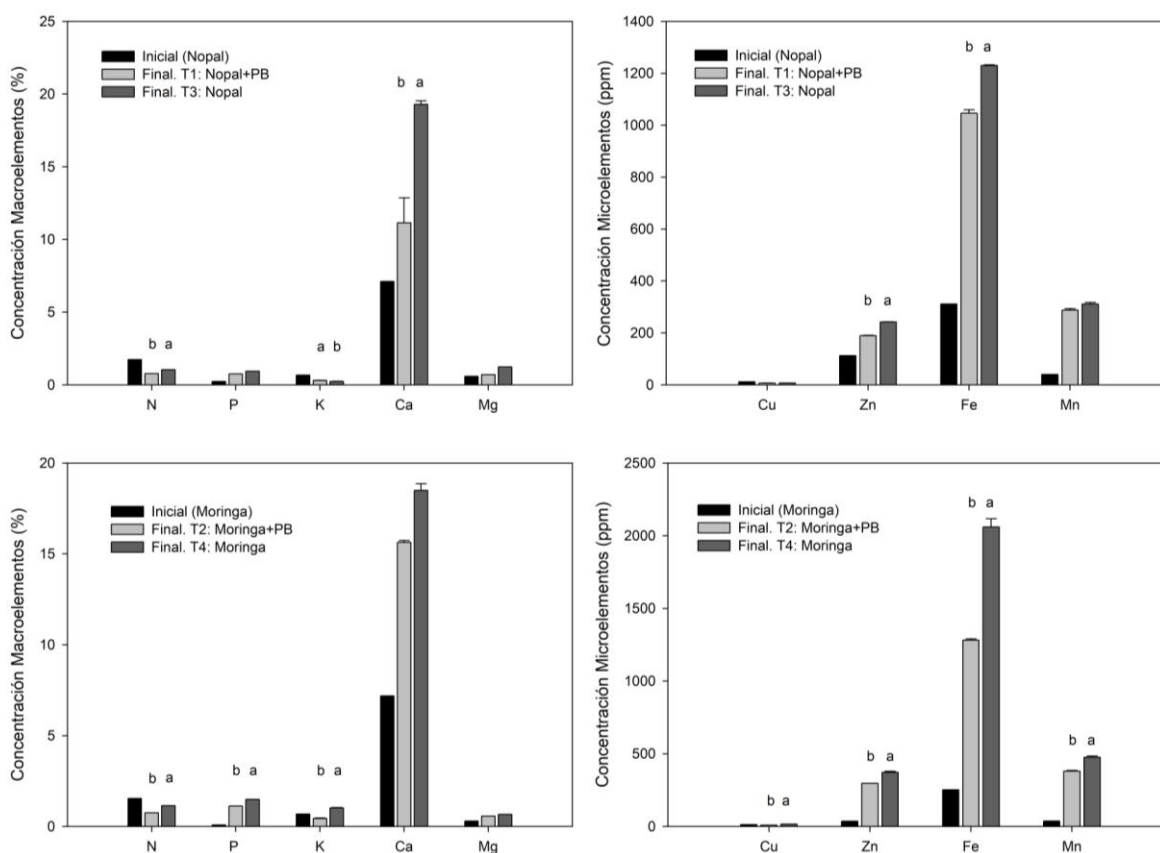


Figura 2. Concentración inicial y final (un año) de macro- y microelementos en compostas estáticas, considerando nopal y moringa como sustratos principales y la inclusión de

preparados biodinámicos (PB). Comparación estadística únicamente entre concentraciones finales. Barras sin letras son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05). Fuente: datos obtenidos de laboratorio (FAUANL), 2016-2017. Procesador: SigmaPlot 10.0.

En general, se observaron menores concentraciones de macro y microelementos en las pilas de composta con inclusión de PB y de nopal. Dicho comportamiento fue debido al incremento de la descomposición y la mineralización, promovida principalmente por la actividad bacteriana, lo cual a su vez incrementó la liberación de los elementos al medio, ya sea por lixiviación y volatilización. Tal aspecto se refleja como una desventaja de la aplicación de PB. Sin embargo, la correcta captación o retención de los elementos liberados, hacen del uso de los PB un método para incrementar la disponibilidad de los elementos contenidos en los materiales originales, hacia las plantas.

Las concentraciones de macro- y microelementos finales en las compostas se mantienen dentro del rango aceptable y reportado por diversos autores (Rasapoor *et al.*, 2009; Nasini *et al.*, 2016).

En el ACP se seleccionaron los valores del primer (61.77%) y segundo (27.01%) componente, los cuales explican aproximadamente 89% de la varianza total. El primer componente mostró correlación entre las variables bacterias, temperatura y relación C:N, asociadas al T1, además de la correlación entre N, P, K, Ca, Cu, Zn, Fe y Mn, asociados al T4. El segundo componente mostró correlación entre hongos/levaduras, MO, H, Mg y humedad, asociados al T3 (Figura 3). Los resultados del ACP concuerdan con lo presentado anteriormente, donde se correlacionan las variables macro y microelementos (excepto Mg), cuyas mayores concentraciones se asocian al T4. Además, se confirma la correlación de variables relacionadas a la actividad microbiana (temperatura, C:N, MO y bacterias, principalmente),

asociadas al T1. Dichos comportamientos reflejan el incremento del proceso de descomposición, fomentado por la aplicación de PB y el sustrato nopal.

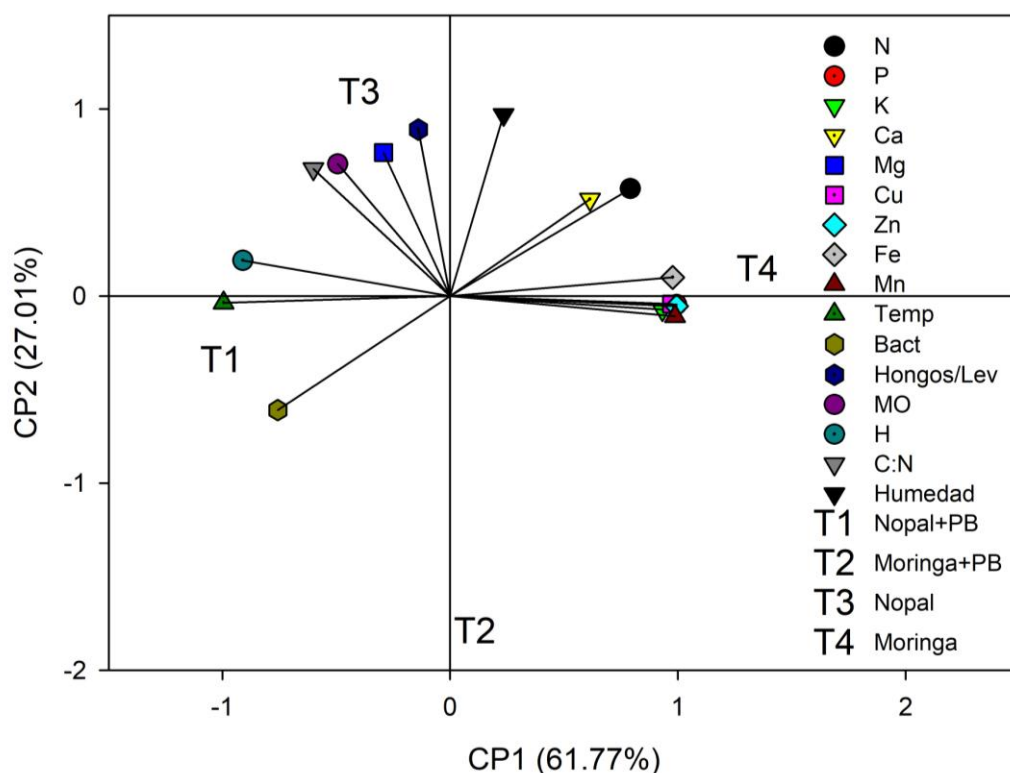


Figura 3. Análisis de componentes principales para las variables físicas, químicas y biológicas de compostas estáticas. PB: preparados biodinámicos, N: nitrógeno, P: fósforo, K: potasio, Ca: calcio, Mg: magnesio, Cu: cobre, Zn: zinc, Fe: hierro, Mn: manganeso, Temp: temperatura máxima, Bact: bacterias totales, Hongos/Lev: hongos/levaduras totales, MO: materia orgánica, H: hidrógeno, C:N: relación carbono:nitrógeno. Fuente: datos obtenidos de campo y laboratorio (FAUANL), 2016-2017. Procesador: SigmaPlot 10.0.

## 5. Conclusiones

A través de la interacción significativa de los factores evaluados (PB x sustrato), se concluye que la combinación de los PB con nopal alcanzó la mayor temperatura, reducción de humedad y en general, mayor mineralización. La diferencia significativa encontrada en los factores

principales muestra una mayor actividad bacteriana en tratamientos con PB y mayor MO, H y relación C:N para tratamientos con el sustrato nopal.

La disminución en la concentración de N y C e incremento de los elementos evaluados durante un año, refleja el comportamiento característico del proceso de compostaje. Al finalizar el período evaluado (un año), los valores de los parámetros se encuentran dentro del rango aceptable para un producto final maduro.

La aireación de las compostas por medio del método pasivo fomentó la actividad microbiana, medida a través de su incremento en población y las variables relacionadas a ésta (temperatura, mineralización, contenido de carbono y nitrógeno). El empleo de los sustratos principales evaluados promueve el aprovechamiento de recursos regionales y a la vez el reciclaje de los minerales y compuestos contenidos en la biomasa.

## **6. Literatura citada**

- Carpenter, B. L.; Reganold, J. P. and Kennedy, A. C. 2000. Effects of biodynamic preparations on compost development. *Biol Agric Hortic.* 17(4):313-328. doi:10.1080/01448765.2000.9754852.
- Demeter International. 2004. Production standards. Demeter International e.V. <https://www.demeter.net/>. Verified: 18.02.2018.
- Escudero, A.; González, A. A.; del Hierro, O.; Pinto, M. and Gartzia, B. N. 2012. Nitrogen dynamics in soil amended with manures composted in dynamic and static systems. *J Environ Manage.* 108:66-72. doi:10.1016/j.jenvman.2012.04.046.
- Etheridge, R. D.; Pesti, G. M. and Foster, E. H. 1998. A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory. *Anim Feed Sci Tech.* 73(1):21-28. doi:10.1016/S0377-8401(98)00136-9.

- Guo, R.; Li, G.; Jiang, T.; Schuchardt, F.; Chen, T.; Zhao, Y. and Shen, Y. 2012. Effect of aeration rate, C/N ratio and moisture content on the stability and maturity of compost. *Bioresource Technol.* 112:171-178. doi:10.1016/j.biortech.2012.02.099.
- Hubbe, M. A.; Nazhad, M. and Sánchez, C. 2010. Composting as a way to convert cellulosic biomass and organic waste into high-value soil amendments: a review. *5(4):2808-2854.*
- Krey, T.; Vassilev, N.; Baum, C. and Eichler-Löbermann, B. 2013. Effects of long-term phosphorus application and plant-growth promoting rhizobacteria on maize phosphorus nutrition under field conditions. *Eur. J. Soil Biol.* 55:124-130. doi:10.1016/j.ejsobi.2012.12.007.
- Luo, W.; Chen, T. B.; Zheng, G. D.; Gao, D.; Zhang, Y. A. and Gao, W. 2008. Effect of moisture adjustments on vertical temperature distribution during forced-aeration static-pile composting of sewage sludge. *Resour Conserv Recy.* 52(4):635-642. doi:10.1016/j.resconrec.2007.08.004.
- Nair, A. and Delate, K. 2016. Composting, crop rotation, and cover crop practices in organic vegetable production. *In: organic farming for sustainable agriculture.* Nandwani, E. (Ed.). Springer. Nashville, Tennessee, USA. 231-257 pp.
- Nasini, L.; Luca, G.; Ricci, A.; Ortolani, F.; Caselli, A.; Massaccesi, L.; Regni, L.; Gigliotti, G. and Proietti, P. 2016. Gas emissions during olive mill waste composting under static pile conditions. *Int Biodeter Biodegr.* 107:70-76. doi:10.1016/j.ibiod.2015.11.001.
- Oliveira, B. R.; van Laarhoven, K.; Smit, M. P.; Rijnaarts, H. H. and Grotenhuis, T. 2017. Impact of compost and manure on the ripening of dredged sediments. *J Soil Sediment.* 17(2):567-577. doi:10.1007/s11368-016-1571-6.

- Rasapoor, M.; Nasrabadi, T.; Kamali, M. and Hoveidi, H. 2009. The effects of aeration rate on generated compost quality, using aerated static pile method. *Waste Manage.* 29(2):570-573. doi:10.1016/j.wasman.2008.04.012.
- Reeve, J. R.; Carpenter, B. L.; Reganold, J. P.; York, A. L. and Brinton, W. F. 2010. Influence of biodynamic preparations on compost development and resultant compost extracts on wheat seedling growth. *Bioresource Technol.* 101(14):5658-5666. doi:10.1016/j.biortech.2010.01.144.
- Singh, D. P.; Singh, H. B. and Prabha, R. 2016. *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity: Vol. 1 research perspectives.* Springer. New Delhi, India. doi:10.1007/978-81-322-2647-5.
- Sradnick, A.; Murugan, R.; Oltmanns, M.; Raupp, J. and Joergensen, R. G. 2013. Changes in functional diversity of the soil microbial community in a heterogeneous sandy soil after long-term fertilization with cattle manure and mineral fertilizer. *Appl. Soil. Ecol.* 63:23-28. doi:10.1016/j.apsoil.2012.09.011.
- Steiner, R. 1988. *Curso sobre agricultura biológico-dinámica: principios basados en la ciencia espiritual para el desarrollo de la agricultura, cursos para agricultores en Koberwitz 1924.* Rudolf Steiner. Madrid, España. 282 p.
- Storino, F.; Arizmendiarieta, J. S.; Irigoyen, I.; Muro, J. and Aparicio, T. P. M. 2016. Meat waste as feedstock for home composting: Effects on the process and quality of compost. *Waste Manage.* 56:53-62. doi:10.1016/j.wasman.2016.07.004.
- Tang, J. C.; Maie, N.; Tada, Y. and Katayama, A. 2006. Characterization of the maturing process of cattle manure compost. *Process Biochem.* 41(2):380-389. doi:10.1016/j.procbio.2005.06.022.

Vos, B. de; Lettens, S.; Muys, B. and Deckers, J. A. 2007. Walkley-black analysis of forest soil organic carbon: recovery, limitations and uncertainty. *Soil Use Manage.* 23(3):221-229. doi:10.1111/j.1475-2743.2007.00084.x.

Zaller, J. G. and Köpke, U. 2004. Effects of traditional and biodynamic farmyard manure amendment on yields, soil chemical, biochemical and biological properties in a long-term field experiment. *Biol Fert Soils.* 40(4):222-229. doi:10.1007/s00374-004-0772-0.



## Estabilidad de compostas estáticas biodinámicas a partir de restos de cultivos regionales

Heberto Antonio Rodas-Gaitán<sup>1</sup>  
Rigoberto Eustacio Vázquez-Alvarado<sup>1§</sup>  
Emilio Olivares-Sáenz<sup>1</sup>  
Juana Aranda-Ruiz<sup>1</sup>  
José Manuel Palma-García<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudios de Postgrado e Investigación, Facultad de Agronomía-Universidad Autónoma de Nuevo León. Campus de Ciencias Agropecuarias, Av. Francisco Villa s/n, Col. Exhacienda El Canadá. General Escobedo, Nuevo León. CP. 66050. (heberto.rodas@yahoo.com; emolivares@gmail.com; juany62@hotmail.com). <sup>2</sup>Centro de Investigación y Desarrollo Agropecuario. Av. Universidad núm. 333. Las Víboras, Colima, México. CP. 28040. (palmagarciajm@hotmail.com).

§Autor para correspondencia: r-vazquez-alvarado@yahoo.com.mx.

### Resumen

La elaboración de compostas a partir de residuos agrícolas permite generar una alternativa en la producción de abonos orgánicos. Tradicionalmente el volteo constante, hace oneroso este sistema, por lo que la producción de compostas estáticas asociadas a la aplicación de preparados biodinámicos (PB), promueve el desarrollo de alternativas sustentables. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la inclusión de PB (base fundamental de la agricultura biodinámica) en compostas estáticas de restos de nopal y moringa como sustratos principales, estableciendo un experimento con un diseño completamente al azar y arreglo bifactorial, en Zuazua, Nuevo León. Se consideraron cuatro tratamientos: T1, nopal+PB; T2, moringa+PB, T3, nopal y T4, moringa. Asimismo, la estabilidad de las compostas fue evaluada durante un año; a través, del comportamiento de 16 variables (físicas, químicas y biológicas). Las interacciones significativas mostraron que el uso de nopal y aplicación de PB en las compostas, promovieron en general una mayor mineralización, temperatura y menor humedad. De acuerdo a la significancia estadística de los factores principales, en tratamientos con PB se encontraron los máximos valores de UFC de bacterias y en tratamientos con nopal los mayores valores de materia orgánica, relación C:N e hidrógeno. La concentración de macro- y microelementos incrementó en cada tratamiento al final del período evaluado, con excepción del N, K y Cu. La descomposición de los sustratos principales regionales empleados en las pilas estáticas fue favorecida por la inclusión de PB.

**Palabras clave:** *Moringa oleifera* Lam., *Opuntia ficus indica* L. Mill.; agricultura biodinámica.

Recibido: enero de 2019

Aceptado: febrero de 2019

El aumento poblacional durante las últimas décadas conlleva al incremento de la demanda de alimentos, provocando a su vez mayores cantidades de residuos orgánicos provenientes del sector agrícola o industrial. El manejo incontrolado de éstos dirige hacia un proceso de contaminación, incluyendo los mantos freáticos, atmósfera y suelo, debido a la lixiviación de minerales indeseados, gases efecto invernadero o químicos contenidos en los residuos. Una de las estrategias para el manejo de la materia orgánica es el compostaje, definido como la transformación de ésta en compuestos más estables en un proceso controlado y bajo condiciones aeróbicas (Hubbe *et al.*, 2010). Además, las condiciones dentro de las pilas de compostaje reducen el potencial de microorganismos patógenos (Storino *et al.*, 2016), el producto obtenido es de alto valor y funciona como enmienda del suelo al mejorar sus características físicas, químicas y biológicas.

Dentro de los métodos de compostaje, el manejo como pilas estáticas puede alcanzar la mayor reducción en energía y costos, debido a que no son necesarios los volteos (Hubbe *et al.*, 2010; Nasini *et al.*, 2016). El manejo y uso eficiente de compostas no solamente es la base de la fertilidad de los suelos en la agricultura sostenible, sino forma parte del conjunto de componentes indispensables manejados dentro del enfoque de la agricultura biodinámica (Demeter International, 2004).

La biodinámica (AB) surge durante la primera mitad de la década de los 20 (Steiner, 1988), considerada como una forma de producción agrícola alternativa, bajo un sistema cerrado, donde la inclusión de animales de granja y plantas es necesaria para obtener biofertilizantes y enmiendas de suelo. El uso de preparados biodinámicos (PB) y composta se consideran como base fundamental de la AB. Los seis PB que son empleados en la composta, pasan por un período de fermentación de seis meses a un año y posteriormente son aplicados en proporciones de 5-15 cm<sup>3</sup> para 14 t de materia prima (Steiner, 1988; Zaller y Köpke, 2004). Las compostas con PB muestran contenidos superiores de nitrógeno, temperaturas, actividad de enzima deshidrogenasa, mayor actividad microbiana, capacidad de retención de nutrientes, población de microorganismos, en contraste con la composta sin tratamiento (Carpenter-Boggs *et al.*, 2000; Reeve *et al.*, 2010; Sradnick *et al.*, 2013).

La AB considera el aprovechamiento de recursos regionales para la producción agropecuaria y toma como base la conservación de la fertilidad del suelo. Por lo tanto, se planteó como propósito de la presente investigación evaluar la inclusión de los PB en el proceso de compostaje estático, de residuales de nopal (*Opuntia ficus indica* L. Mill.) y moringa (*Moringa oleifera* Lam.).

El experimento se realizó en la finca orgánica “Zu-Nopalito” (certificada por BioAgriCert), localizada en Zuazua, Nuevo León (25° 53' latitud norte, 100° 02' longitud oeste). Se encuentra alrededor de 355 msnm y una precipitación anual de 520 mm. El nopal y moringa utilizados como sustratos principales en el proceso de compostaje, se obtuvieron de la finca orgánica ‘Zu-Nopalito’ y de los invernaderos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL), respectivamente. Los PB fueron adquiridos de la finca certificada Demeter ‘El Equimite’ (Demeter International, 2004).

La construcción de las pilas se basó en el criterio principal de relación C:N inicial 20:1. Cada uno de los dos sustratos principales fue mezclado con estiércol vacuno/gallinaza (1:1), como fuente de nitrógeno. Las dimensiones por pila fueron de aproximadamente 2.25, 0.90 y 1.30 m de largo, alto y ancho, respectivamente. Para el sistema de aireación pasivo, se emplearon tubos de PVC (3”

diámetro), con agujeros (3/4" pulgada) cada 10 cm, colocados transversalmente en la base de las pilas de composta. Para el experimento fueron construidas cuatro pilas de composta, dos de nopal y otras dos de moringa, como sustratos principales. De las pilas con el mismo sustrato, a una se le dio el tratamiento con PB y la otra funcionó como testigo, sin PB (T1, Nopal+PB; T2, Moringa+PB; T3, Nopal; T4, Moringa).

Se monitorearon 16 variables en el tiempo (octubre 2016-octubre 2017). Para la toma de muestras se consideró la media profundidad y la longitud total de las pilas.

Los sustratos principales y el material composteado (un año) fueron analizados obteniendo una muestra compuesta (cinco submuestras) y cuantificada en triplicado. Además, se analizó el agua de riego para poder determinar el aporte nutrimental por parte de ésta.

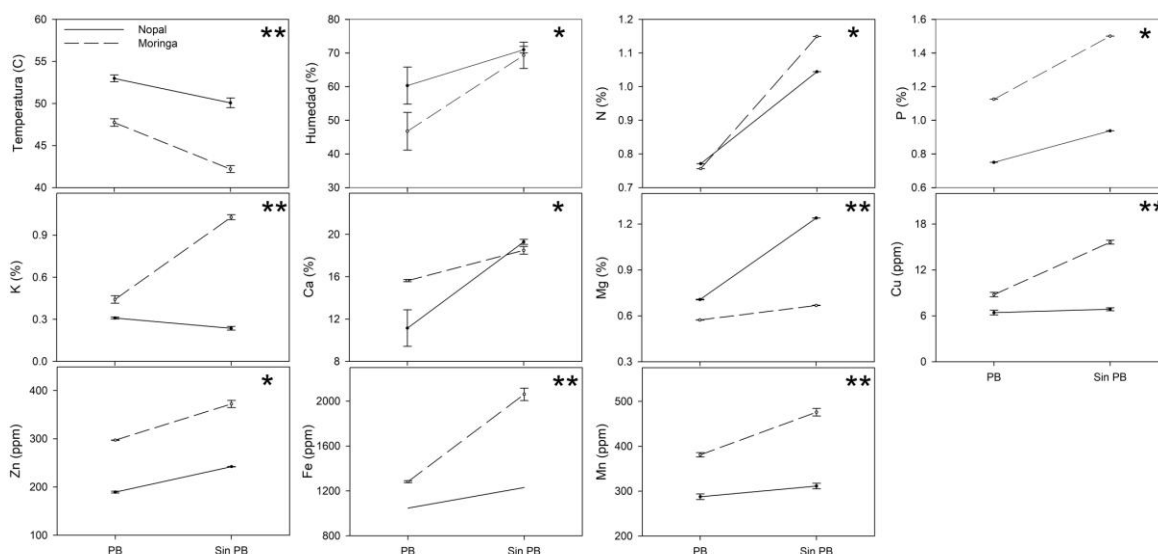
Para el análisis de carbono (C) e hidrógeno (H), las muestras fueron secadas a temperatura constante de 60 °C por 24 h y determinados mediante el método de Dumas (combustión seca), utilizando un analizador TruSpec (LECO, 2016). La materia orgánica (MO) fue obtenida multiplicando el C orgánico por un factor de 1.72 (Vos *et al.*, 2007). El nitrógeno total (N) fue cuantificado con el procedimiento de digestión Kjeldahl (Etheridge *et al.*, 1998). La determinación del contenido de fósforo (P) fue realizado por el método vanadato-molibdato y el uso de un espectrofotómetro Spectronic®, modelo Helios Epsilon (USA) (Krey *et al.*, 2013). El potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), cobre (Cu), zinc (Zn), hierro (Fe) y manganeso (Mn) fueron determinados por espectroscopia de absorción atómica (UNICAM Solar®, modelo 9626).

La temperatura y humedad se monitorearon semanalmente durante las primeras 14 semanas, considerando cinco muestras por composta. Para el registro de temperatura, se colocaron cinco termómetros para la medición al centro y a lo largo de las pilas. El porcentaje de humedad fue determinado tras el secado a temperatura constante de 105 °C por 24 h (Escudero *et al.*, 2012).

Las poblaciones de bacterias y hongos/levaduras fueron cuantificadas cada cuatro semanas durante la fase más activa del proceso de compostaje (14 semanas). Se extrajeron cinco muestras del centro y a lo largo de cada pila y posteriormente almacenadas a 4 °C hasta su análisis. Las muestras fueron preparadas en diluciones de 1:106 y 1:107 para cuantificar el crecimiento de hongos/levaduras y bacterias, respectivamente. La inoculación de 1 mL por muestra fue realizada en placas 3M™ Petrifilm™. Para hongos/levaduras, las placas 3M Petrifilm RYM fueron incubadas a 28 °C ±2 °C durante cinco días. Para bacterias, las placas 3M Petrifilm AC fueron incubadas a 35 °C ±2 °C durante 48 h.

El experimento fue establecido bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2, siendo uno de los factores principales el uso de PB con dos niveles (con, sin PB) y el otro factor el tipo de sustratos con dos niveles (nopal, moringa). Los datos obtenidos de las variables en los diferentes puntos de muestreo fueron sometidos a un análisis de varianza (Anva) de una vía. En caso necesario, se realizó la transformación arcoseno previo al Anva. La comparación de medias fue realizada empleando la prueba de honestidad de la diferencia significativa de Tukey ( $p < 0.05$ ). Adicionalmente, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para encontrar la relación entre las variables físicas, químicas y biológicas en el proceso de compostaje y su asociación con los distintos tratamientos. Los análisis estadísticos fueron realizados por medio del paquete estadístico SPSS 17.0.

Por medio del Anva se encontró interacción altamente significativa de los factores evaluados (PB x Sustrato) para las variables temperatura, K, Mg, Cu, Fe, Mn y una interacción significativa para humedad, N, P, Ca y Zn. La aplicación de los PB en las compostas indujo el aumento de temperatura, reducción de humedad y en general, la disminución de la concentración final de los elementos anteriormente mencionados (Figura 1).



**Figura 4. Variables físicas y químicas con interacción significativa (\*P<0.05) y altamente significativa (\*\*P<0.01) en los factores evaluados (Preparados Biodinámicos x Sustrato).** Fuente: datos obtenidos de campo y laboratorio (FAUANL), 2016-2017. Procesador: SigmaPlot 10.0.

En caso del factor principal -PB-, se encontró diferencia altamente significativa para la variable bacterias y únicamente significativo para relación C:N, en donde los tratamientos con inclusión de PB mostraron los máximos valores. Para el factor principal -sustrato-, se encontró una diferencia altamente significativa para MO, relación C:N e H, donde los tratamientos con nopal mostraron los máximos valores (Cuadro 1). La variable hongos/levaduras no presentó diferencia estadística significativa entre tratamientos ( $4.97 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^9$ ,  $4.75 \times 10^9 \pm 1.83 \times 10^9$ ,  $6.77 \times 10^9 \pm 8.99 \times 10^8$  y  $5.18 \times 10^9 \pm 6.11 \times 10^8$  UFC totales, para T1, T2, T3 y T4, respectivamente).

**Cuadro 2. Variables con diferencia significativa (\*P<0.05) y altamente significativa (\*\*P<0.01) en los factores principales (Preparados Biodinámicos y Sustrato).**

Factor ANVA	Inclusión PB/Sustrato	Bacterias (UFC <sup>†</sup> totales)	C:N <sup>††</sup>	MO <sup>‡</sup> (%)	H <sup>‡‡</sup> (%)
PB	Con PB	$1.61 \times 10^8 \pm 2.05 \times 10^7$ a**	$11.66 \pm 4.59$ a*	$24.08 \pm 5.10$ a	$1.62 \pm 0.35$ a
	Sin PB	$1.27 \times 10^8 \pm 1.64 \times 10^7$ b	$9.30 \pm 3.18$ b	$26.96 \pm 4.92$ a	$1.81 \pm 0.27$ a
Sustrato	Nopal	$1.54 \times 10^8 \pm 1.92 \times 10^7$ a	$13.78 \pm 2.25$ a**	$29.65 \pm 2.64$ a**	$1.92 \pm 0.16$ a**
	Moringa	$1.37 \times 10^8 \pm 2.87 \times 10^7$ a	$7.18 \pm 0.85$ b	$21.40 \pm 2.64$ b	$1.42 \pm 0.24$ b

Medias con letras iguales por factor y por columna, no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).  
<sup>†</sup>Unidades formadoras de colonias; <sup>††</sup>Relación carbono:nitrógeno; <sup>‡</sup>Materia orgánica; <sup>‡‡</sup>Hidrógeno. Fuente: datos obtenidos de laboratorio FAUANL (2017).

Los resultados de temperatura obtenidos concuerdan con Zaller y Köpke (2004); Reeve *et al.* (2010), quienes reportaron temperaturas superiores en las pilas inoculadas con PB, en comparación con los controles (sin PB). Además, indican mayor actividad microbiana en las primeras, sugerido por la mayor actividad de la enzima deshidrogenasa. El incremento en temperatura es el producto de la descomposición de la materia orgánica, como reflejo de la actividad microbiana, lo cual a su vez disminuye la humedad y la concentración de elementos, tales como el C, H y O (Singh *et al.*, 2016).

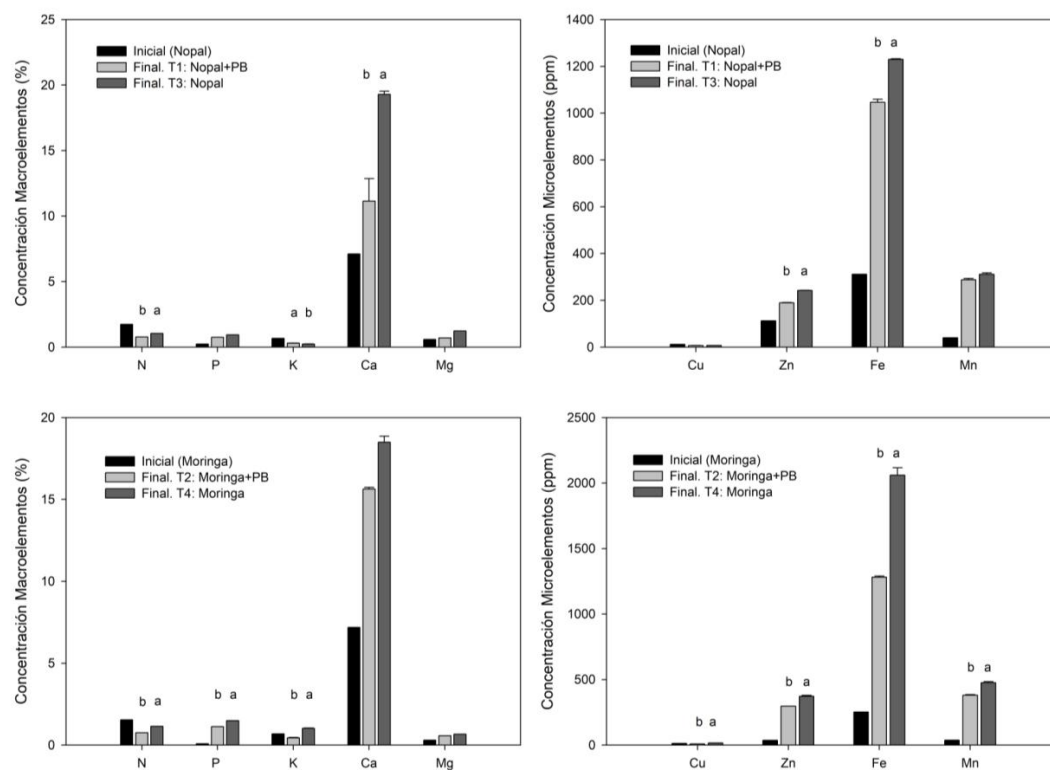
Los valores de MO al final del período evaluado no mostraron diferencia significativa entre tratamientos con y sin PB (Cuadro 1). Sin embargo, el porcentaje de pérdida de carbono (a lo largo del período de evaluación) reflejó la mayor actividad de descomposición del material orgánico en aquellas pilas con PB (54 y 64% para T1 y T2, respectivamente), en contraste con las pilas sin PB (50 y 57% para T3 y T4, respectivamente).

El porcentaje de humedad alcanzado se encuentra dentro del rango adecuado para la actividad microbiana (Tang *et al.*, 2006), éste es un parámetro crítico para la optimización de dichos sistemas (Luo *et al.*, 2008), el cual depende de la correcta selección y proporción de mezcla de los materiales. Los puntos máximos de temperatura alcanzados fueron de 58, 55, 59 y 56 °C para el T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Tales valores garantizan el control de patógenos para humanos (Storino *et al.*, 2016).

En el Cuadro 1 se observa que la relación C:N de los cuatro tratamientos se mantuvo entre valores de 7:1 y 14:1. Nair y Delate (2016) sugieren valores entre 10-15:1, como óptimos para compostas maduras a ser aplicadas en campo. El ajuste de la relación C:N inicial en las compostas de la presente investigación (20:1) se calculó de acuerdo a los valores iniciales de los sustratos principales, siendo éstos de 24.88, 36.67, 8.02 y 13.77 para nopal, moringa, gallinaza y bovinaza, respectivamente. Éste parámetro es uno de los más importantes para el desarrollo de un proceso de compostaje (Guo *et al.*, 2012).

El período más activo del proceso de compostaje (fase mesofílica y termofílica) fue durante las primeras 14 semanas. Período donde se obtuvieron los máximos valores de temperatura, UFC de bacterias y hongos/levaduras.

En la Figura 2, se observa la comparación de las concentraciones de elementos de las mezclas iniciales y las pilas de composta maduras (un año). La concentración de N disminuyó hacia el final del proceso en todos los tratamientos, al igual que los valores de K y Cu (excepto para el T4). La concentración de P, Ca, Mg, Zn, Fe y Mn en las compostas maduras incrementó, debido a la disminución característica del volumen del material en descomposición (Oliveira *et al.*, 2017) y al aporte de macroelementos por parte del agua de riego (Ca, 11.48 meq L<sup>-1</sup>; Mg, 7.71 meq L<sup>-1</sup>). En el T4 se encontró la menor concentración de microorganismos y temperatura, por ende, un menor grado de descomposición y mineralización, manteniendo los minerales fijados en el material original.



**Figura 5. Concentración inicial y final (un año) de macro- y microelementos en compostas estáticas, considerando nopal y moringa como sustratos principales y la inclusión de preparados biodinámicos (PB).** Comparación estadística únicamente entre concentraciones finales. Barras sin letras son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05). Fuente: datos obtenidos de laboratorio (FAUANL), 2016-2017. Procesador: SigmaPlot 10.0.

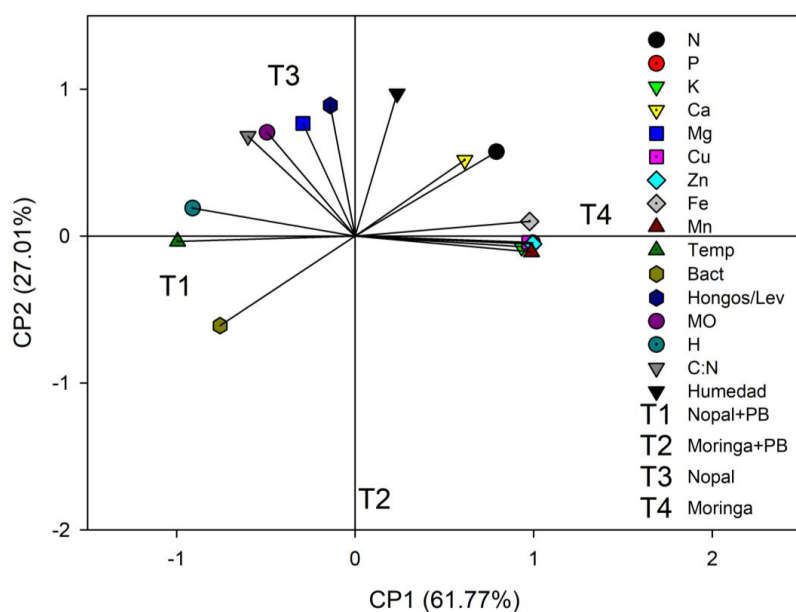
En general, se observaron menores concentraciones de macro y microelementos en las pilas de composta con inclusión de PB y de nopal. Dicho comportamiento fue debido al incremento de la descomposición y la mineralización, promovida principalmente por la actividad bacteriana, lo cual a su vez incrementó la liberación de los elementos al medio, ya sea por lixiviación y volatilización. Tal aspecto se refleja como una desventaja de la aplicación de PB. Sin embargo, la correcta captación o retención de los elementos liberados, hacen del uso de los PB un método para incrementar la disponibilidad de los elementos contenidos en los materiales originales, hacia las plantas.

Las concentraciones de macro- y microelementos finales en las compostas se mantienen dentro del rango aceptable y reportado por diversos autores (Rasapoor *et al.*, 2009; Nasini *et al.*, 2016).

En el ACP se seleccionaron los valores del primer (61.77%) y segundo (27.01%) componente, los cuales explican aproximadamente 89% de la varianza total. El primer componente mostró correlación entre las variables bacterias, temperatura y relación C:N, asociadas al T1, además de la correlación entre N, P, K, Ca, Cu, Zn, Fe y Mn, asociados al T4. El segundo componente mostró correlación entre hongos/levaduras, MO, H, Mg y humedad, asociados al T3 (Figura 3). Los resultados del ACP concuerdan con lo presentado anteriormente, donde se correlacionan las variables macro y microelementos (excepto Mg), cuyas mayores concentraciones se asocian al T4. Además, se confirma la correlación de variables relacionadas a la actividad microbiana



(temperatura, C:N, MO y bacterias, principalmente), asociadas al T1. Dichos comportamientos reflejan el incremento del proceso de descomposición, fomentado por la aplicación de PB y el sustrato nopal.



**Figura 6. Análisis de componentes principales para las variables físicas, químicas y biológicas de compostas estáticas. PB= preparados biodinámicos; Temp= temperatura máxima; Bact= bacterias totales; Hongos/Lev= hongos/levaduras totales; MO= materia orgánica; H= hidrógeno; C:N= relación carbono:nitrógeno.** Fuente: datos obtenidos de campo y laboratorio (FAUANL), 2016-2017. Procesador: SigmaPlot 10.0.

## Conclusiones

A través de la interacción significativa de los factores evaluados (PB x sustrato), se concluye que la combinación de los PB con nopal alcanzó la mayor temperatura, reducción de humedad y en general, mayor mineralización. La diferencia significativa encontrada en los factores principales muestra una mayor actividad bacteriana en tratamientos con PB y mayor MO, H y relación C:N para tratamientos con el sustrato nopal.

La disminución en la concentración de N y C e incremento de los elementos evaluados durante un año, refleja el comportamiento característico del proceso de compostaje. Al finalizar el período evaluado (un año), los valores de los parámetros se encuentran dentro del rango aceptable para un producto final maduro.

La aireación de las compostas por medio del método pasivo fomentó la actividad microbiana, medida a través de su incremento en población y las variables relacionadas a ésta (temperatura, mineralización, contenido de carbono y nitrógeno). El empleo de los sustratos principales evaluados promueve el aprovechamiento de recursos regionales y a la vez el reciclaje de los minerales y compuestos contenidos en la biomasa.

## Literatura citada

- Carpenter, B. L.; Reganold, J. P. and Kennedy, A. C. 2000. Effects of biodynamic preparations on compost development. *Biol Agric Hortic.* 17(4):313-328. doi:10.1080/01448765.2000.9754852.
- Demeter International. 2004. Production standards. Demeter International e.V. <https://www.demeter.net/>. Verified: 18.02.2018.
- Escudero, A.; González, A. A.; del Hierro, O.; Pinto, M. and Gartzia, B. N. 2012. Nitrogen dynamics in soil amended with manures composted in dynamic and static systems. *J Environ Manage.* 108:66-72. doi:10.1016/j.jenvman.2012.04.046.
- Etheridge, R. D.; Pesti, G. M. and Foster, E. H. 1998. A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory. *Anim Feed Sci Tech.* 73(1):21-28. doi:10.1016/S0377-8401(98)00136-9.
- Guo, R.; Li, G.; Jiang, T.; Schuchardt, F.; Chen, T.; Zhao, Y. and Shen, Y. 2012. Effect of aeration rate, C/N ratio and moisture content on the stability and maturity of compost. *Bioresource Technol.* 112:171-178. doi:10.1016/j.biortech.2012.02.099.
- Hubbe, M. A.; Nazhad, M. and Sánchez, C. 2010. Composting as a way to convert cellulosic biomass and organic waste into high-value soil amendments: a review. *5(4):2808-2854.*
- Krey, T.; Vassilev, N.; Baum, C. and Eichler-Löbermann, B. 2013. Effects of long-term phosphorus application and plant-growth promoting rhizobacteria on maize phosphorus nutrition under field conditions. *Eur. J. Soil Biol.* 55:124-130. doi:10.1016/j.ejsobi.2012.12.007.
- Luo, W.; Chen, T. B.; Zheng, G. D.; Gao, D.; Zhang, Y. A. and Gao, W. 2008. Effect of moisture adjustments on vertical temperature distribution during forced-aeration static-pile composting of sewage sludge. *Resour Conserv Recy.* 52(4):635-642. doi:10.1016/j.resconrec.2007.08.004.
- Nair, A. and Delate, K. 2016. Composting, crop rotation, and cover crop practices in organic vegetable production. *In: organic farming for sustainable agriculture.* Nandwani, E. (Ed.). Springer. Nashville, Tennessee, USA. 231-257 pp.
- Nasini, L.; Luca, G.; Ricci, A.; Ortolani, F.; Caselli, A.; Massaccesi, L.; Regni, L.; Gigliotti, G. and Proietti, P. 2016. Gas emissions during olive mill waste composting under static pile conditions. *Int Biodeter Biodegr.* 107:70-76. doi:10.1016/j.ibiod.2015.11.001.
- Oliveira, B. R.; van Laarhoven, K.; Smit, M. P.; Rijnaarts, H. H. and Grotenhuis, T. 2017. Impact of compost and manure on the ripening of dredged sediments. *J Soil Sediment.* 17(2):567-577. doi:10.1007/s11368-016-1571-6.
- Rasapoor, M.; Nasrabadi, T.; Kamali, M. and Hoveidi, H. 2009. The effects of aeration rate on generated compost quality, using aerated static pile method. *Waste Manage.* 29(2):570-573. doi:10.1016/j.wasman.2008.04.012.
- Reeve, J. R.; Carpenter, B. L.; Reganold, J. P.; York, A. L. and Brinton, W. F. 2010. Influence of biodynamic preparations on compost development and resultant compost extracts on wheat seedling growth. *Bioresource Technol.* 101(14):5658-5666. doi:10.1016/j.biortech.2010.01.144.
- Singh, D. P.; Singh, H. B. and Prabha, R. 2016. Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity: Vol. 1 research perspectives. Springer. New Delhi, India. doi:10.1007/978-81-322-2647-5.



- Sradnick, A.; Murugan, R.; Oltmanns, M.; Raupp, J. and Joergensen, R. G. 2013. Changes in functional diversity of the soil microbial community in a heterogeneous sandy soil after long-term fertilization with cattle manure and mineral fertilizer. *Appl. Soil. Ecol.* 63:23-28. doi:10.1016/j.apsoil.2012.09.011.
- Steiner, R. 1988. *Curso sobre agricultura biológico-dinámica: principios basados en la ciencia espiritual para el desarrollo de la agricultura, cursos para agricultores en Koberwitz 1924.* Rudolf Steiner. Madrid, España. 282 p.
- Storino, F.; Arizmendiarieta, J. S.; Irigoyen, I.; Muro, J. and Aparicio, T. P. M. 2016. Meat waste as feedstock for home composting: Effects on the process and quality of compost. *Waste Manage.* 56:53-62. doi:10.1016/j.wasman.2016.07.004.
- Tang, J. C.; Maie, N.; Tada, Y. and Katayama, A. 2006. Characterization of the maturing process of cattle manure compost. *Process Biochem.* 41(2):380-389. doi:10.1016/j.procbio.2005.06.022.
- Vos, B. de; Lettens, S.; Muys, B. and Deckers, J. A. 2007. Walkley-black analysis of forest soil organic carbon: recovery, limitations and uncertainty. *Soil Use Manage.* 23(3):221-229. doi:10.1111/j.1475-2743.2007.00084.x.
- Zaller, J. G. and Köpke, U. 2004. Effects of traditional and biodynamic farmyard manure amendment on yields, soil chemical, biochemical and biological properties in a long-term field experiment. *Biol Fert Soils.* 40(4):222-229. doi:10.1007/s00374-004-0772-0.

## CAPÍTULO II. PREPARADOS BIODINÁMICOS EN COMPOSTAS ESTÁTICAS A PARTIR DE RESTOS DE NOPAL Y MORINGA

### 7. Resumen

La agricultura biodinámica (AB) surgió como una alternativa hace casi un siglo, considerando los preparados biodinámicos (PB) y el compost como esenciales para la sostenibilidad de las granjas. El compostaje es una forma de obtener biofertilizantes o enmiendas del suelo, mientras que el método de pilas estáticas reduce la energía y el costo porque no se necesitan volteos. El presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de los PB sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del compost estático a partir de residuos de nopal y moringa (sustratos principales regionales). El experimento se llevó a cabo en una granja orgánica (Nuevo León, México) considerando cuatro tratamientos: T1, nopal + PB; T2, moringa + PB; T3, nopal y T4, moringa. Los resultados mostraron una actividad bacteriana significativamente más alta ( $p < 0.05$ ) en T1 (hasta  $1.38 \times 10^{10}$  UFC), por lo tanto las temperaturas más altas y la mineralización (menor concentración de micro-microelementos en el compost final). Los tratamientos con nopal alcanzaron las temperaturas más altas en más de 100 días de compostaje, en comparación con aquellos con moringa (significativamente en el 71% del total de días de muestreo,  $p < 0.05$ ). El ambiente aeróbico se mantuvo mediante el sistema de aireación pasiva (tuberías de PVC con orificios, colocados en la capa inferior). El material final se consideró descontaminado, según los análisis de Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* y *Salmonella / Shigella* para el control de calidad. Los resultados indican la eficiencia de los PB en la descomposición de sustratos regionales, mediante el uso del método de pilas estáticas.

Palabras clave: microorganismos, mineralización, *Moringa oleifera*, *Opuntia ficus-indica*, análisis de componentes principales.

## 8. Introducción

La agricultura biodinámica (AB) surgió durante la primera mitad de la década de 1920 como una forma alternativa de producir de manera sostenible y autosuficiente (Pfeiffer 2011). Los fundamentos del movimiento biodinámico fueron presentados por el filósofo austriaco Rudolf Steiner (en Koberwitz, actualmente Polonia), quien aceptó la solicitud de los agricultores a dar una respuesta a la pérdida de la fertilidad progresiva del suelo, la viabilidad de las semillas y la disminución de la salud animal (Steiner 2009). La AB tiene características comunes con la producción orgánica, como la rotación de cultivos, el uso de biofertilizantes, el control biológico de plagas y enfermedades, pero el enfoque biodinámico holístico considera la inclusión de animales de granja y plantas. Además, la piedra angular de la agricultura biodinámica son los preparados biodinámicos (PB), aplicados en el suelo, los cultivos y en compost. Hay seis PB utilizados en el compost, expuestos a un período de fermentación de 6 meses a 1 año y enterrados en el suelo. Después de la cosecha de los PB, estos se aplican a tasas de entre 1 y 5 g aproximadamente (von Wistinghausen *et al.* 2000, Reeve *et al.* 2010). Aunque éste tipo de agricultura se ha practicado durante casi un siglo, la información en revistas revisadas científicas aún es escasa con respecto al efecto perceptible de PB en el producto de compost final (Carpenter-Boggs *et al.*, 2000; Reeve *et al.* 2010). En la mayoría de los países, la AB no es muy conocida, como México, donde actualmente se pueden encontrar más de 83,000 granjas orgánicas, pero solo 5 biodinámicas (de <https://www.demeter.net/>). Sin embargo, la atención ha ido en aumento en diferentes continentes, creciendo en áreas y miembros, como Asia, América, África, pero especialmente en Europa (Villanueva-Rey *et al.* 2014).

A pesar del bajo interés de las formas alternativas de producir, ni las técnicas para producir promotores de mejoramiento de suelos, biofertilizantes, biocontroles de enfermedades y plagas, ni el impacto social o ambiental de la agricultura han recibido una considerable atención científica. Durante las últimas décadas, los desechos orgánicos provenientes del sector industrial o agrícola

están en aumento, los cuales merecen más atención para desarrollar y mejorar el manejo óptimo de esos desechos. Dentro de esos métodos, el proceso de compostaje es una forma de reducir los olores provenientes de la descomposición descontrolada de la materia orgánica, la contaminación ambiental, los posibles microorganismos patógenos para humanos, mientras se obtiene un subproducto de alto valor, que mejora las características físicas, químicas y biológicas en el suelo (Stoffella y Kahn 2006). Sin embargo, deben considerarse las condiciones para un proceso óptimo, como el contenido de humedad, la tasa de aireación, la densidad aparente, la relación carbono:nitrógeno (C:N) y el costo energético. La madurez del compost es un parámetro clave para evaluar su calidad y efecto positivo a través de su aplicación (Sen *et al.* 2007).

El compostaje de pilas estáticas promueve un proceso eficiente, principalmente por la reducción de energía y costos, ya que no es necesario realizar volteos (Hubbe *et al.* 2010). Nasini *et al.* (2016) reportaron el uso de compostaje de pilas estáticas y su eficiencia para convertir la extracción de aceite de oliva y los productos derivados de la transformación de uva en una enmienda de suelo de alta calidad, considerando la estabilidad, la madurez y el impacto ambiental.

El diseño y la gestión de los procesos de compostaje biodinámico para agricultores de áreas de países subdesarrollados deben dirigirse a la reducción de energía y costos. Por lo tanto, el propósito de este estudio es evaluar el efecto de uno de los fundamentos de la agricultura biodinámica, los PB. El proceso de compostaje se llevó a cabo como pilas estáticas, utilizando los residuos de cultivos de nopal (*Opuntia ficus indica* L. Mill.) y moringa (*Moringa oleifera* Lam.) como sustratos principales. Este es el primer estudio sobre la evaluación del efecto de los PB que se centra en la reducción de energía, que se suele utilizar para el sistema de volteo o de aireación de pilas. Además, todo el proceso se llevó a cabo en condiciones locales y sin una modificación específica de los materiales, facilitando su implementación.

## 9. Materiales y Métodos

### 9.1. Ubicación del experimento

El experimento de campo se estableció en la granja orgánica "Zu-Nopalito" (certificada por BioAgriCert), ubicada en Zuazua, Nuevo León (25 ° 53 'N, 100 ° 02' W), a unos 355 m sobre el nivel del mar y una precipitación anual de 520 mm.

### 9.2. Material biológico

Los principales sustratos para el compostaje de pilas estáticas fueron los desechos de nopal y moringa, procedentes de una granja orgánica e invernadero de producción convencional, respectivamente. Se utilizó estiércol de gallina y bovinos en cada pila para ajustar la proporción C:N en una proporción de 1: 1. Los PB para el compost (Cuadro 2) se obtuvieron de la granja certificada Demeter "El Equimite" (Veracruz, México).

Cuadro 3. Identificación de los preparados biodinámicos y descripción de sus componentes.

IN	Composition of biodynamic preparations
502	Flores de milenrama ( <i>Achillea millefolium</i> L.)
503	Flores de manzanilla ( <i>Matricaria recutita</i> L.)
504	Brotes de ortiga ( <i>Urtica dioica</i> L.)
505	Corteza de roble ( <i>Quercus robur</i> L.)
506	Flores de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> L.)
507	Extracto de flores de valeriana ( <i>Valeriana officinalis</i> L.)

### 9.3. Compostas estáticas

Las proporciones de los materiales para cada pila se calcularon para obtener una relación inicial aproximada de C:N de 20:1. El volumen final (2 m<sup>3</sup>) y el peso total (1.5 toneladas) de cada pila de

compost fueron similares, con el fin de disminuir la variabilidad causada por la estructura y dimensiones de la pila (para todos los tratamientos: 1.3, 0.9 y 2.5 m de ancho, altura y longitud, respectivamente). Los sustratos se organizaron en tres capas, cada una de aproximadamente 30 cm de altura. Los residuos de nopal y moringa se cortaron hasta obtener trozos de 5-10 cm y se usaron en la capa inferior para promover la aireación. En la capa media y superior, los materiales vegetales se cortaron hasta obtener un tamaño inferior a 5 cm para aumentar la mineralización. En cada pila, los desechos de los cultivos fueron los primeros en colocarse sobre el suelo para retener o disminuir los lixiviados.

Se construyeron cuatro pilas, dos se trataron con PB y las otras se analizaron como controles, sin PB (T1, nopal + PB; T2, moringa + PB; T3, nopal; T4, moringa). La proporción de PB consistió en 2 g de cada preparación sólida (502-506) y 5 ml de líquido (507). Masson y Masson (2013) mencionan la cantidad de PB anterior para 10-15 m<sup>3</sup> de materia prima.

Se instaló un sistema de microaspersión para el riego de pilas de compost. El tiempo de riego fue el mismo para todos los tratamientos, calculado después del análisis de humedad, para obtener el ambiente adecuado para el desarrollo de microorganismos (aproximadamente 60% de humedad). El agua fue obtenida de una fuente subterránea.

#### **9.4. Análisis químicos, físicos y biológicos de pilas de compost.**

Cinco muestras por tratamiento fueron tomadas y analizadas en una frecuencia específica según el parámetro y según el cambio de valor a lo largo del tiempo. En cada día de muestreo, las muestras fueron tomadas a lo largo de 2,5 m de longitud y media profundidad de la pila. Los diferentes valores de los parámetros fueron la manera de decidir cuándo el compost estaba "listo", pero principalmente la actividad de los microorganismos y estabilización de temperatura (cercana a la ambiental), considerada como la fase de enfriamiento (Hubbe *et al.* 2010).

#### **9.4.1. Parámetros físicos**

El intervalo de lectura de la temperatura se modificó según las tasas de aumento o disminución de la temperatura. Se monitorizaron tres capas diferentes (inferior, media y superior), con los termómetros ubicados en 8 posiciones a lo largo de la pila. El porcentaje de humedad se determinó mediante secado a temperatura constante de 105°C durante 24 horas (Escudero *et al.* 2012). El volumen total se calculó por la diferencia entre las dimensiones de las pilas de compost final e inicial.

#### **9.4.2. Parámetros químicos**

La conductividad eléctrica (CE) y el valor de pH del compost se midieron en un extracto de agua 1:10 (Nasini *et al.* 2016), utilizando un multiparámetro (Thermo Scientific Orion 4-Star).

Las muestras de compost se incineraron utilizando un horno de mufla ajustado a 400°C durante 24 h, donde se calculó el contenido de materia orgánica (MO) con la diferencia del peso inicial y final (Solano *et al.* 2001). El nitrógeno total del compost se cuantificó utilizando un procedimiento de digestión con Kjeldahl (Etheridge *et al.* 1998). El contenido de P se determinó utilizando el método de vanadato-molibdato con un fotómetro espectral (Krey *et al.* 2013). El contenido de K, Ca, Mg, Cu, Zn, Fe y Mn se estimó mediante espectroscopia de absorción atómica (UNICAM Solar®, modelo 9626).

#### **9.4.3. Parámetros biológicos**

Todas las muestras se prepararon en una dilución de 1:10 (muestra: buffer de fosfato de potasio) y en diluciones consecutivas hasta que se alcanzan los recuentos óptimos de los microorganismos de interés, en un rango de 30 a 300 UFC de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994 (Wang *et al.* 2012). Se utilizaron diluciones 1:10<sup>6</sup> y 1:10<sup>7</sup> para evaluar el crecimiento de levaduras/hongos y bacterias, respectivamente.

La inoculación de 1 mL por muestra se realizó en placas 3M™ Petrifilm™. Para levaduras y hongos, las placas 3M™ Petrifilm™ RYM se incubaron a 28°C±2°C durante 5 días. Para las

bacterias, las placas 3M™ Petrifilm™ AC se incubaron a 35°C±2°C durante 48 h. La cuantificación final se realizó con la ayuda de un contador de colonias SOL-BAT Q-14.

Después de un período de 100 días, se tomaron muestras de diferentes puntos considerando la profundidad y la longitud completas de las pilas y se analizaron para la detección de bacterias de la familia Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* / Coliformes totales y *Salmonella* / *Shigella*, utilizando las respectivas placas de recuento y períodos de incubación: 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae / temperatura ambiente durante 24 h; 3M™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliform y *Salmonella-Shigella* Agar BBL durante 48 horas a 35°C±2°C.

### **9.5. Diseño y análisis estadístico.**

Los valores de los parámetros físicos, químicos y biológicos medidos a lo largo del tiempo (temperatura, pH, CE, porcentaje de humedad, relación C:N, MO, nitrógeno y UFC de microorganismos) se analizaron mediante la selección de modelos de regresión no lineal con criterios del mayor coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y menor cuadrático medio del error. Se utilizó el software Sigma-plot para el análisis de regresión.

Los datos obtenidos de cada variable en los diferentes puntos de muestreo se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). La comparación de medias se realizó utilizando la prueba de diferencia de significancia de Tukey ( $p < 0,05$ ). Al final del experimento, se analizaron 18 variables y se sometieron a un análisis de componentes principales (ACP). El paquete de software estadístico SPSS se utilizó para ANOVA, comparación de medios y ACP.

## **10. Resultados**

### **10.1. Parámetros físicos**

Durante las primeras 24 horas, las temperaturas de las pilas de compost aumentaron hasta un máximo de 55.8±1.3°C. Debido a las altas tasas de aumento/disminución de temperatura durante el primer mes, fue necesario registrar tres veces por semana. Aproximadamente 35 días después de que el



material se mezcló, la temperatura mostró una tasa de cambio menor, registrándola una vez por semana hasta que se estabilizó alrededor de la temperatura ambiente (desde el día 50).

Al comparar las capas dentro de los tratamientos, se observó que en las pilas con nopal como sustrato principal (T1 y T3), la temperatura media de la capa superior y media durante los primeros 55 días fue mayor que la de la capa inferior, pero estadísticamente en 92% de los días de muestreo. Al utilizar la moringa como sustrato principal (T2 y T4), tales diferencias se lograron hasta el día 52, estadísticamente en el 81% de los casos. Después de esos períodos, las temperaturas fueron estadísticamente similares entre las capas (Figura 4).

Al comparar los tratamientos por capa, la Figura 4 muestra que las temperaturas medias de los tratamientos con nopal (T1 y T3) fueron más altas que los tratamientos con moringa (T2 y T4) durante los primeros 100 días de compostaje (excepto los primeros 2 días en T1, capa superior), estadísticamente en el 71% de los días de muestreo.

Se encontraron diferencias significativas de temperatura entre los tratamientos con y sin PB. Respecto a las pilas con nopal (T1 y T3), las temperaturas medias de T1 fueron superiores a las de T3 durante los 100 días de compostaje, pero estadísticamente en 64, 64 y 42% de los días de muestreo para las capas superior, media e inferior, respectivamente. En el caso de pilas con moringa (T2 y T4), las temperaturas medias de T2 fueron superiores a T4 para las capas superior, media (excepto el primer día) e inferior durante los 100 días de análisis, pero estadísticamente en 38, 38 y 31% del muestreo, respectivamente. Solo el 4% de los días de muestreo totales mostraron una temperatura media más alta en una pila sin PB, en comparación con el mismo sustrato principal y PB.

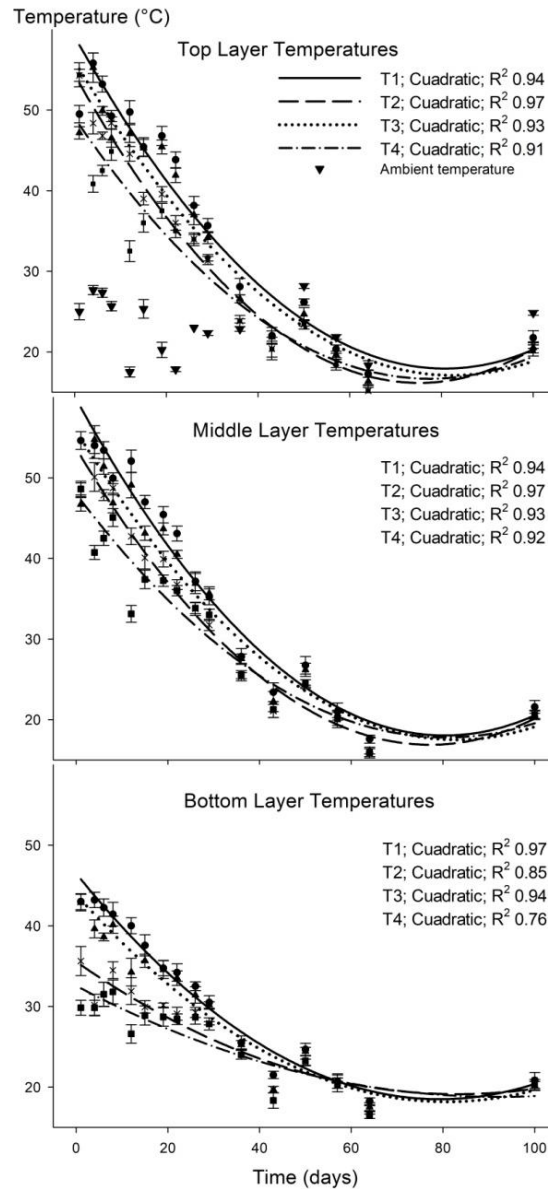


Figura 7. Temperatura media de las pilas estáticas (T1 ● nopal de nopal + PB; T2 × moringa + PB; T3 ▲ de nopal; T4 ■ moringa) por capa en las fase más activa (100 días). Las medias (±SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (prueba de Tukey,  $p < 0.05$ ).

La humedad de las pilas mostró una diferencia significativa en diferentes días de muestreo. Durante los primeros ocho días, la humedad de T2 fue estadísticamente inferior a la de otros tratamientos. En

el día 64 se registró la humedad más baja para T1 y T3. Y al final del período analizado, los valores más bajos se encontraron en T1 y T4 (Figura 5).

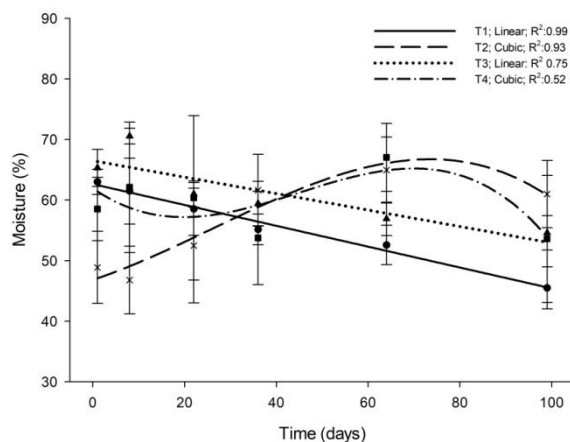


Figura 8. Humedad de las pilas estáticas (T1 ● nopal de nopal + PB; T2 x moringa + PB; T3 ▲ de nopal; t4 ■ moringa) durante 100 días de análisis. Las medias ( $\pm$  SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (prueba de Tukey,  $p < 0.05$ ).

## 10.2. Parámetros químicos

Los valores de pH máximo y mínimo durante el período analizado (100 días) oscilaron entre 8.2 y 9.3 (Figura 6). Se registraron diferencias significativas de valores de pH para los siguientes tratamientos y días de muestreo (tiempo de compostaje): valor más bajo para T3, primer día; valores máximos para T2 y T4, día ocho, 22, 36 y 100.

EC varió dependiendo del punto de muestreo y material de las pilas. Los valores estadísticamente máximos a lo largo del tiempo se alcanzaron para los siguientes tratamientos y días de muestreo; T2-T3 (primero); T2-T4 (22) y T4 (100). El valor máximo se mostró al final del período analizado (T4,  $3.99 \pm 0.44$  dS  $m^{-1}$ ) (Figura 6).

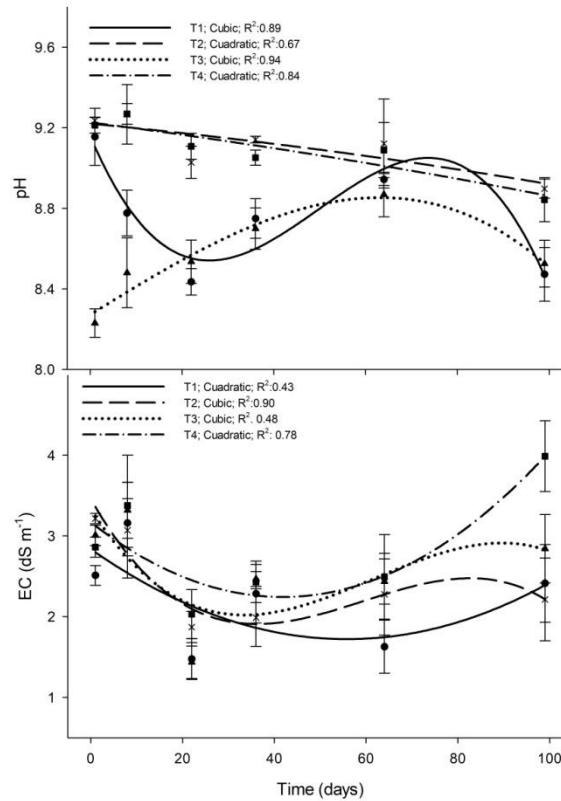


Figura 9. pH y conductividad eléctrica (CE) de pilas estáticas (T1 ● nopal de nopal + PB; T2 × moringa + PB; T3 ▲ de nopal; T4 ■ moringa) durante 100 días de análisis. Las medias ( $\pm$  SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (prueba de Tukey,  $p < 0.05$ ).

Los valores de MO, nitrógeno y relación C:N disminuyeron durante el período evaluado y de acuerdo con los diferentes tratamientos. Se registraron diferencias significativas de los valores de MO para los siguientes tratamientos y días de muestreo (tiempo de compostaje): el valor más bajo para T1, día 64; valores máximos para T2 y T3, día 100. Los valores de nitrógeno mostraron las siguientes diferencias significativas para los tratamientos respectivos y los días de muestreo: valores máximos para T4 y valores mínimos para T1, día 36, 64 y 100. La relación C:N se vio afectada significativamente

durante el tiempo, T2 y T4 mostraron los valores mínimos en los días 36 y 100 de compostaje (Figura 7).

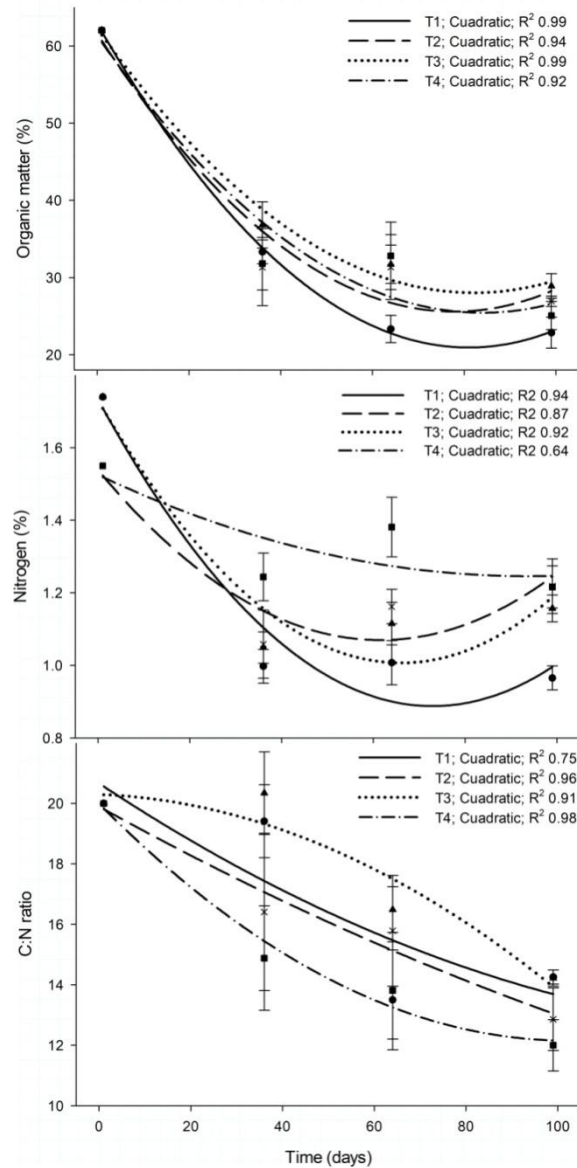


Figura 10. Materia orgánica (MO), nitrógeno (N) y relación C:N de pilas estáticas (T1 ● nopal + PB; T2 × moringa + PB; T3 ▲ nopal; T4 ■ moringa) durante 100 días de análisis. Las medias ( $\pm$  SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (prueba de Tukey,  $p < 0.05$ ).

Al analizar los macro- y micronutrientes en las muestras de compost después de 100 días, se encontraron interacciones entre los factores evaluados (uso de PB y sustratos principales) para las variables N, K, Zn y Mn. La inclusión de PB mostró una alta diferencia significativa ( $p < 0.01$ ) en concentraciones de K y Mn. Valores estadísticamente superiores ( $p < 0.01$ ) de Ca/Mg y Cu fueron encontradas en compost de restos de nopal y moringa, respectivamente (Figura 8).

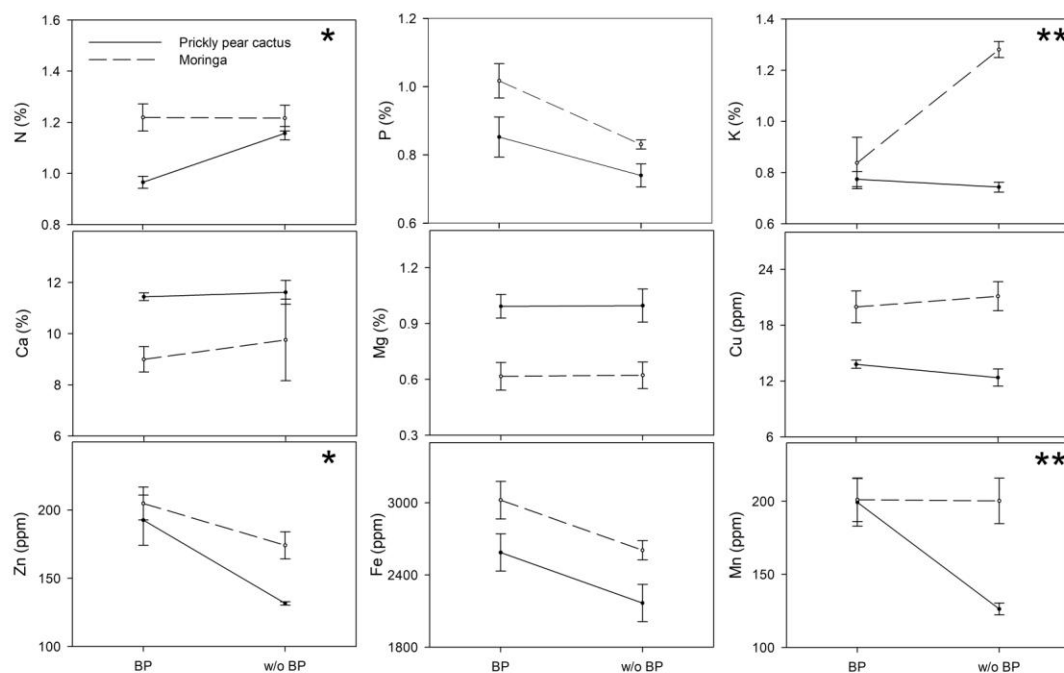


Figura 11. Concentración de macro- y microelementos después de 100 días de compostaje y su interacción significativa (\* $p < 0.05$ ) y altamente significativa (\*\* $p < 0.01$ ) entre factores evaluados (PB: preparados biodinámicos y sustratos principales). Medias fueron calculadas a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo.

### 10.3. Parámetros biológicos

La población total de microorganismos (UFC  $g^{-1}$  compost) en el material biológico mostró los valores más altos en preparados biodinámicos que los residuos orgánicos de cultivos y animales (Cuadro 3).

Cuadro 4. Hongos, levaduras y bacterias totales (UFC g<sup>-1</sup> compost) en sustratos principales utilizados en pilas estáticas y preparados biodinámicos.

Substratos y preparados biodinámicos	Hongos y levaduras (UFC g <sup>-1</sup> )	Bacterias (UFC g <sup>-1</sup> )
Nopal	4.20x10 <sup>6</sup>	7.35x10 <sup>4</sup>
Moringa	1.03x10 <sup>6</sup>	3.20x10 <sup>5</sup>
Bovinaza	2.00x10 <sup>6</sup>	2.49x10 <sup>5</sup>
Gallinaza	2.50x10 <sup>6</sup>	5.52x10 <sup>5</sup>
Preparados biodinámicos		
502 Milenrama ( <i>Achillea millefolium</i> L.)	3.75x10 <sup>7</sup>	9.80x10 <sup>6</sup>
503 Manzanilla ( <i>Matricaria recutita</i> L.)	1.66x10 <sup>7</sup>	3.20x10 <sup>7</sup>
504 Ortiga ( <i>Urtica dioica</i> L.)	6.00x10 <sup>6</sup>	4.40x10 <sup>6</sup>
505 Roble ( <i>Quercus robur</i> L.)	3.50x10 <sup>6</sup>	4.80x10 <sup>6</sup>
506 Diente de León ( <i>Taraxacum officinale</i> L.)	7.50x10 <sup>6</sup>	3.18x10 <sup>7</sup>
507 Valeriana ( <i>Valeriana officinalis</i> L.)	1.28x10 <sup>7</sup>	2.38x10 <sup>7</sup>

Las bacterias totales, hongos y poblaciones de levaduras (UFC g<sup>-1</sup>) contenidas en las pilas de compost mostraron una diferencia significativa a lo largo del tiempo. Los valores de la población de bacterias mostraron diferencias significativas para los siguientes tratamientos y días de muestreo: valores máximos para T2 y T4, día 8; T1, día 22; T1, T2 y T3, día 36; T3 y T4, día 64. El valor máximo para las bacterias se alcanzó para el T1 en el día 22 ( $1.38 \times 10^{10} \pm 3.04 \times 10^9$ ). Los valores de la población de hongos y levaduras fueron significativamente más altos para los siguientes tratamientos y días de

muestreo: T2 y T4, día 8; T3, día 64. La población máxima de hongos y levaduras se encontró en T3 en el día 64 ( $7.20 \times 10^7 \pm 0.00$ ) (Figura 9).

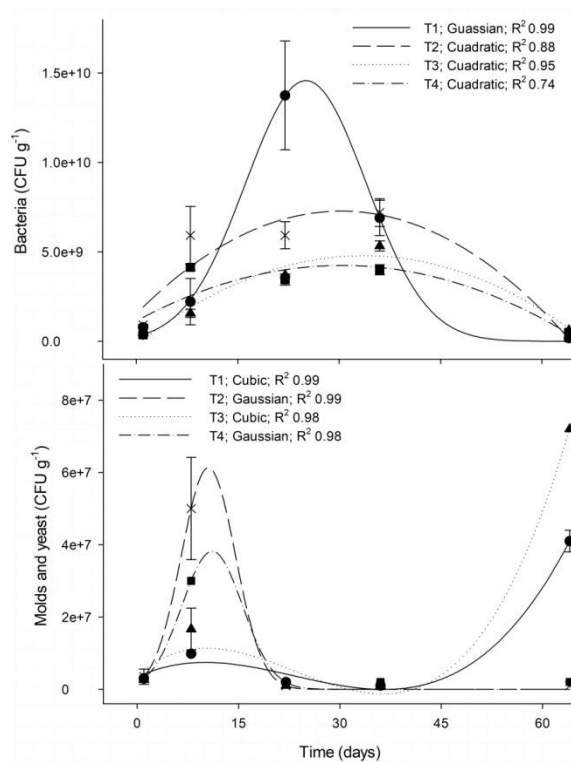


Figura 12. Compuesto total de CFU g<sup>-1</sup> de bacterias, mohos y levaduras en pilas estáticas (T1 ● nopal + PB; T2 × moringa + PB; T3 ▲ de nopal cactus; T4 ■ moringa) durante 65 días de análisis. Las medias ( $\pm$  SD) se calcularon a partir de cinco repeticiones para cada tratamiento y día de muestreo. Diferencia estadística (test de Tukey,  $p < 0.05$ ).

En cuanto al análisis de bacterias de la familia Enterobacteriaceae, de *Escherichia coli*/Coliformes y *Salmonella/Shigella*, una concentración de 62 UFC de *Escherichia coli*/Coliformes por gramo de compost (base peso seco) fue detectado en T3.



#### 10.4. Interacción de variables físicas, químicas y biológicas a través de un PCA

Se seleccionaron el primero y segundo componente principal, que explican aproximadamente el 89% de la varianza total. El primer componente mostró correlación entre N, P, K, Cu, Zn, Fe, Mn, pH y volumen, asociado a T4. Además, en el mismo componente se asoció una correlación entre el calcio, el magnesio y la relación C:N a T1. El segundo componente mostró una correlación entre las bacterias y la temperatura, asociada a T1 y T2. Además de una correlación entre CE, MO, hongos y levaduras, asociada a T3 (Figura 10).

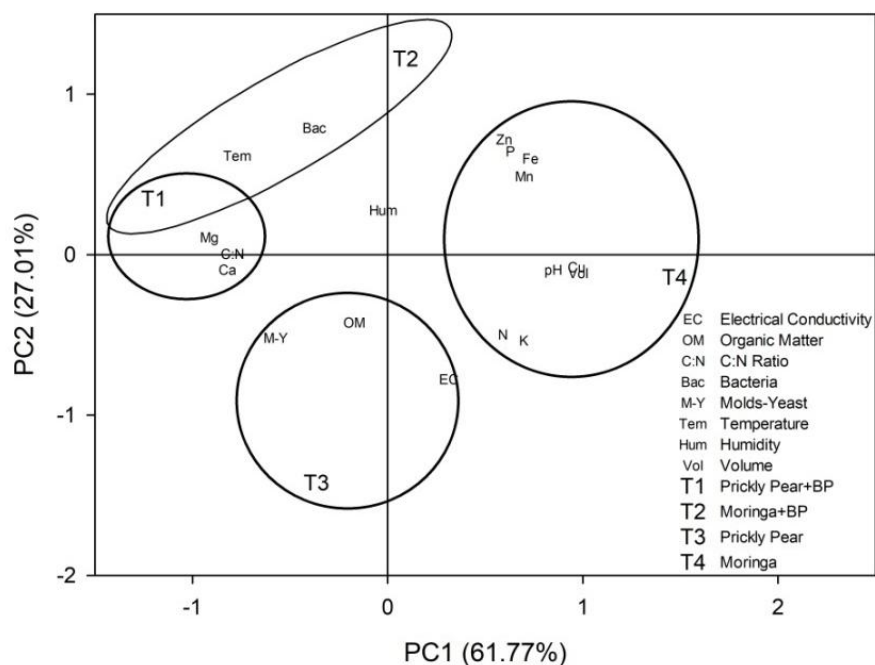


Figura 13. Análisis de componentes principales de variables físicas, químicas y biológicas de pilas estáticas. PB: preparaciones biodinámicas, N: nitrógeno; P: fósforo; K: potasio, Ca: calcio, Mg: magnesio, Cu: cobre, Zn: zinc, Fe: hierro, Mn: manganeso.

## 11. Discusión

### 11.1. Parámetros físicos

Al analizar las temperaturas de las capas por tratamiento, los valores crecientes a lo largo del tiempo (lo que sugiere actividad microbiana) mostraron la eficiencia del sistema de aireación pasiva en el mantenimiento de un entorno aeróbico, sin volteos de pilas. Las diferencias máximas entre las temperaturas de las capas superior (superior e intermedia) e inferior fueron 12.6, 19.9, 15.6 y 24.5°C en T1, T2, T3 y T4, respectivamente (alcanzadas durante los primeros cuatro días), debido a las tuberías de PVC perforadas, colocadas sobre el suelo. La tasa de aumento de temperatura más baja de las capas inferiores en pilas con moringa (T2 y T4) contribuyó a las máximas diferencias (Figura 4).

Los valores de temperatura no fueron los mismos para las pilas completas, la capa media y superior de cada tratamiento alcanzaron valores por encima de 50°C, siendo óptima para el proceso de compostaje (Isobaev *et al.* 2014). Por otro lado, el inconveniente de las dimensiones de las pilas fue la temperatura alcanzada en las capas inferiores (bajo 45°C). Sin embargo, podría modificarse para alcanzar el valor deseable aumentando la altura de las pilas. Bajo el compostaje tradicional de volteo, la temperatura de la capa inferior aumenta en el mismo nivel o más alto que las capas superiores (Hubbe *et al.* 2010; Luo *et al.* 2008).

En la Figura 4, la comparación entre los sustratos principales (T1 y T3 frente a T2 y T4) mostró las temperaturas medias más altas en pilas estáticas con nopal, debido a las condiciones óptimas de crecimiento de los microorganismos promovidas por el mucílago. Este compuesto polimérico de sustancias de carbohidratos se considera un medio de crecimiento óptimo para microorganismos, que contiene L-arabinosa, D-Galactosa, L-ramnosa, D-xilosa, ácido galacturónico en varias proporciones, baja acidez y alto contenido de sólidos solubles (Gebresamuel y Gebre- Mariam 2012). Está estructurado por pectina y mucílago, con Ca<sup>2+</sup>/gelificante y sin propiedades gelificantes, respectivamente (Matsuhira *et al.* 2006; Sepúlveda *et al.* 2007).

Al comparar las temperaturas de los tratamientos por capas, los valores medios de las pilas con PB fueron más altos que aquellos con el mismo sustrato y sin PB. Las diferencias significativas durante los 100 días de compostaje mostraron el efecto de la inclusión de PB en el aumento de la temperatura, que es una consecuencia de la actividad de los microorganismos en la descomposición de la materia orgánica, produciendo calor como liberación de energía (Yang *et al.* 2016). Investigadores reportan la aceleración en el proceso de descomposición al usar los PB en el compost, que mostró temperaturas más altas, contenido de nitrógeno, actividad de la enzima deshidrogenasa (lo que sugiere una mayor actividad microbiana), capacidad de retención de nutrientes, población de microorganismos, en contraste con el compost no tratado (Carpenter-Boggs *et al.* 2000; Mäder *et al.* 2002; Sradnick *et al.* 2013).

El mantenimiento de la temperatura mencionada garantiza la desinfección e higienización del producto de compostaje, refiriéndose a las semillas de malezas, al desarrollo potencial de enfermedades de plantas y humanos (Barberi 2002; Cayuela *et al.* 2008; Deportes *et al.* 1998). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) especifica aproximadamente 55°C durante al menos 3 y 15 días en la pila estática aireada y en el compostaje de hileras (5 vueltas), respectivamente, como el requisito de temperatura para el compostaje de biosólidos. La EPA se refiere generalmente al producto final comercializable como Clase A, que proporciona características físico-químicas al suelo como fertilizante orgánico y sin niveles detectables de patógenos (US EPA 2002).

El comportamiento de humedad fue una función de aumento de temperatura. Los valores más bajos se observaron en los tratamientos con PB, debido al mayor aumento de temperatura. Sin embargo, la humedad durante el período analizado osciló entre un valor óptimo para el desarrollo de la población de microorganismos (Figura 5). La humedad se ha citado como un parámetro crítico para la

optimización de sistemas (Luo *et al.* 2008), la cual depende de la selección correcta de materiales y la proporción de mezcla.

## **11.2. Parámetros químicos**

Masson y Masson (2013) consideran una relación óptima inicial de C:N de 30:1. Sin embargo, los principales sustratos utilizados en el presente estudio contenían una proporción baja de C:N (nopal 24.88, moringa 36.67, estiércol de gallina 8.02, estiércol de vaca 13.77) para alcanzar el valor óptimo después de la mezcla. El manejo de valores bajos de relación C:N en las pilas puede aumentar el uso de estiércol, sin embargo, también aumenta la pérdida de nitrógeno en forma de  $\text{NH}_3$  o  $\text{NH}_4^+$ , dependiendo del pH (Hubbe *et al.* 2010).

En la Figura 6, al comparar el comportamiento del pH entre pilas con el mismo sustrato, se puede observar la diferencia entre T1 y T3 durante los primeros días, debido a la actividad microbiana máxima en T1, liberando  $\text{NH}_3$  al medio y aumentando el valor de pH (Singh *et al.* 2016). Las diferencias entre los tratamientos con nopal y moringa se obtuvieron a lo largo del tiempo debido a la naturaleza del material.

La evolución de los valores de EC a lo largo del tiempo depende de interacciones múltiples de variables. El progreso en el proceso de compostaje se reflejó a través de las tasas de aumento/disminución, logrando valores entre  $1.3 \pm 0.3$  a  $4.0 \pm 0.44$   $\text{dS m}^{-1}$  durante el compostaje de 100 días. Tal comportamiento es generalmente esperado, tal como los resultados de Tatàno *et al.* (2015), quienes reportaron valores crecientes en diferentes compostadores experimentales, con valores de hasta  $5.5$   $\text{dS m}^{-1}$ .

Aunque en el día 100 de compostaje no hubo una diferencia estadística de la relación C:N entre las pilas con el mismo sustrato principal, es necesario estudiar los factores individuales de donde proviene. Al analizar la MO y el nitrógeno entre las pilas con nopal, el T1 mostró valores estadísticamente más altos que el T3, que proponen una mayor descomposición del material en el

primero, promovido por la inclusión de PB. En las pilas con moringa, los valores de MO fueron estadísticamente similares con y sin inclusión de PB, pero la concentración de N en los días 36 y 64 de compostaje fue significativamente menor en aquellos con PB debido a la volatilización o lixiviación de los elementos, promovida por la actividad de los microorganismos, la temperatura, la humedad y su interacción (Singh *et al.* 2016).

La concentración de nitrógeno en diferentes tratamientos disminuyó con el tiempo, sin embargo, durante el período más frío (entre los días 65 y 80, promedio de 15°C) se observaron los niveles más bajos de nitrógeno (Figura 4 y 7). Después del período mencionado, la temperatura ambiente comenzó a aumentar, así como la concentración de nitrógeno para todos los tratamientos. Podemos suponer que los microorganismos aumentaron junto con la temperatura, que puede ser responsable de la fijación de nitrógeno, como Singh *et al.* (2016) mencionan que las bacterias de vida libre juegan un papel importante en este proceso. Resultados similares fueron obtenidos por Gigliotti *et al.* (2012), quienes reportaron el aumento de nitrógeno desde el día 47 hasta el 126, con valores de 0.89 a 1.76%, respectivamente. Se sugieren estudios adicionales para analizar el comportamiento del aumento de nitrógeno relacionado con los microorganismos

### **11.3. Parámetros biológicos**

Las UFC de bacterias totales fueron estadísticamente más altas en pilas con PB (T1 y T2) que aquellas sin PB (T3 y T4). Tales resultados concuerdan con Reeve *et al.* (2010), quienes informaron que los PB (como sustancias fermentadas) estimulan a los organismos presentes en la materia prima, lo que aumenta la actividad de los microorganismos seguida por un aumento de la descomposición. Masson y Masson (2013) refieren que bajo el compostaje de pila biodinámica, no se requieren temperaturas superiores a 55°C porque la población de microorganismos puede verse afectada negativamente. Se sabe que entre toda la población de microorganismos en el suelo (alrededor de 1.5 billones de UFC por gramo), el 2-5% pertenece a los microorganismos beneficiosos, mejorando

procesos como la fijación de nitrógeno, la solubilización de fósforo, aumentando la disponibilidad de hierro en la planta, etc. (Stoffella y Kahn 2006). Los hongos y levaduras fueron los primeros microorganismos en colonizar diferentes tratamientos. Como informan Stoffella y Kahn (2006), estos son el primer tipo de microorganismo que descompone el material para continuar con el aumento de la población de bacterias.

Enterobacteriaceae, *Salmonella* y *Shigella* no se detectaron a través de la longitud y profundidad de las pilas de compost, pero en T3, *Escherichia coli* / Coliformes se ubicaron por debajo de los niveles detectables para ser considerados como material desinfectado (Gantzer *et al.* 2001). Estos resultados mostraron que la desinfección o higiene no solo depende de la temperatura, sino también de la fuente del material del sustrato. Turner (2002) demostró que a 55°C la inactivación de *E. coli* se produce rápidamente, pero a 50°C puede depender de la humedad y la naturaleza del material. Además, explica que la destrucción de los patógenos bacterianos podría depender no solo de la temperatura, sino también de la concentración de amoníaco libre, la duración del calor y el control y la competencia de los microorganismos (Singh *et al.* 2016). Otros autores informan la no detección de *Escherichia coli* 0157: H7 y *Salmonella enteritidis* por temperaturas más bajas durante períodos de 72 y 48 h, respectivamente, o considerando grados días de 180 y 300 (Lung *et al.* 2001; Hess *et al.* 2004). Droffner y Brinton (1995) examinaron *Salmonella* y *Escherichia coli* durante el compostaje aeróbico de desechos municipales y residuos biológicos, lo que sugiere que la eliminación de microorganismos es compleja y no solo depende del entorno físico térmico. En el mismo estudio, ambas bacterias sobrevivieron a aproximadamente 60°C, pero se hizo indetectable durante la etapa de enfriamiento y curado.

La actividad microbiana está fuertemente correlacionada con el aumento y la disminución de la temperatura, de ahí su importancia que se debe monitorear para evaluar la eficiencia y la estabilización del proceso de compostaje (Bustamante *et al.* 2008).

#### **11.4. Interacción de variables físicas, químicas y biológicas a través de un ACP.**

El ACP concuerda con los resultados descritos anteriormente, con respecto a la asociación entre las pilas de compost y el comportamiento de las variables a lo largo del tiempo. Los macro y microelementos se correlacionaron (excepto Ca y Mg) y se asociaron a T4, debido a la tasa de descomposición más baja y los elementos que aún se encuentran en la materia prima. Además, se confirma la correlación de variables relacionadas con la actividad microbiana (temperatura y bacterias) asociadas con T1 y T2, promovida por la inclusión de PB. La mayor proporción de C:N asociada a T1 fue promovida por la actividad microbiana (principalmente bacterias) y la pérdida de nitrógeno.

#### **12. Conclusiones**

Los PB promovieron la reproducción de microorganismos (principalmente bacterias), las temperaturas aumentaron y la descomposición de la materia prima, en comparación con pilas sin PB. El uso de nopal como sustrato principal afectó positivamente el proceso de compostaje. La combinación de los dos factores anteriormente descritos alcanzó el compost final de mejor calidad en el presente estudio (T1, nopal + PB).

El sistema de aireación pasiva proporcionó suficiente flujo de aire al sistema, manteniendo un ambiente aeróbico sin necesidad de voltear. Análisis adicionales confirmaron el saneamiento del compost final.

#### **13. Agradecimientos**

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México) el apoyo económico para llevar a cabo el presente estudio.

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

#### 14. Referencias

- Barberi P., Weed management in organic agriculture: Are we addressing the right issues?, *Weed Res.*, 2002, 42(3), 177–193
- Bustamante M.A., Paredes C., Marhuenda-Egea F.C., Pérez-Espinosa A., Bernal M.P., Moral R., Co-composting of distillery wastes with animal manures: Carbon and nitrogen transformations in the evaluation of compost stability, *Chemosphere*, 2008, 72(4), 551–557
- Carpenter-Boggs L., Reganold J.P., Kennedy A.C., Effects of biodynamic preparations on compost development, *Biol. Agric. Hortic.*, 2000, 17(4), 313–328
- Cayuela M.L., Millner P.D., Meyer S.L.F., Roig A., Potential of olive mill waste and compost as biobased pesticides against weeds, fungi, and nematodes, *Sci. Total Environ.*, 2008, 399(1-3), 11–18
- Deportes, Benoit-Guyod, Zmirou, Bouvier, Microbial disinfection capacity of municipal solid waste (MSW) composting, *J. Appl. Microbiol.*, 1998, 85(2), 238–246
- Droffner M.L., Brinton W.F., Survival of *E. coli* and *Salmonella* populations in aerobic thermophilic composts as measured with DNA gene probes, *Zbl. Hyg. Umweltmed.*, 1995, 197(5), 387–397
- Escudero A., González-Arias A., del Hierro O., Pinto M., Gartzia-Bengoetxea N., Nitrogen dynamics in soil amended with manures composted in dynamic and static systems, *J. Environ. Manage.*, 2012, 108, 66–72
- Etheridge R.D., Pesti G.M., Foster E.H., A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory, *Anim. Feed Sci. Tech.*, 1998, 73(1-2), 21–28
- Gantzer C., Gaspard P., Galvez L., Huyard A., Dumouthier N., Schwartzbrod J., Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge, *Water Res.*, 2001, 35(16), 3763–3770



- Gebresamuel N. and Gebre-Mariam T., Comparative Physico-Chemical Characterization of the mucilages of two cactus pears (*Opuntia* spp.) obtained from Mekelle, Northern Ethiopia, *J. Biomater. Nanobiotech.*, 2012, 03(01), 79–86
- Gigliotti G., Proietti P., Said-Pullicino D., Nasini L., Pezzolla D., Rosati L., Porceddu P.R., Co-composting of olive husks with high moisture contents: organic matter dynamics and compost quality, *Int. Biodeter. Biodegr.*, 2012, 67, 8-14
- Hess T.F., Grzelishvili I., Sheng H., Hovde C.J., Heat Inactivation of *E. coli* During Manure Composting, *Compost Sci. Util.*, 2004, 12(4), 314–322.
- Hubbe M.A., Nazhad M., Sánchez C., Composting as a way to convert cellulosic biomass and organic waste into high-value soil amendments: A Review, *Bioresources*, 2010, 5(4), 2808–2854
- Isobaev P., Bouferguene A., Wichuk K.M., McCartney D., An enhanced compost temperature sampling framework: Case study of a covered aerated static pile, *Waste Manage.*, 2014, 34(7), 1117–1124
- Krey T., Vassilev N., Baum C., Eichler-Löbermann B., Effects of long-term phosphorus application and plant-growth promoting rhizobacteria on maize phosphorus nutrition under field conditions, *Eur. J. Soil Biol.*, 2013, 55, 124–130
- Lung A.J., Lin C.-M., Kim J.M., Marshall M.R., Nordstedt R., Thompson N.P., *et al.*, Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Enteritidis* in Cow Manure Composting, *J. Food Protect.*, 2001, 64(9), 1309–1314
- Luo W., Chen T.B., Zheng G.D., Gao D., Zhang Y.A., Gao W., Effect of moisture adjustments on vertical temperature distribution during forced-aeration static-pile composting of sewage sludge, *Resour. Conserv. Recy.*, 2008, 52(4), 635–642

- Masson, P. and Masson, V., *Landwirtschaft, Garten- und Weinbau biodynamisch*, AT Verlag, Deutschland, 2013
- Matsuhiro B., Lillo L.E., Sáenz C., Urzúa C.C., Zárate O., Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*, *Carbohydr. Polym.*, 2006, 63(2), 263–267
- Mäder P., Fliebbach A., Dubois D., Gunst L., Fried P., Niggli U. Soil fertility and biodiversity in organic farming, *Sci./AAAS*, 2002, 296, 1694-1697
- Nasini L., Luca G. de, Ricci A., Ortolani F., Caselli A., Massaccesi L., Regni L., Gigliotti G., Proietti P., Gas emissions during olive mill waste composting under static pile conditions, *Int. Biodeter. Biodegr.*, 2016, 107, 70–76
- Pfeiffer, E.E., *Pfeiffer's introduction to biodynamics*, Floris Books, United Kingdom, 2011
- Reeve J.R., Carpenter-Boggs L., Reganold J.P., York A.L., Brinton W.F., Influence of biodynamic preparations on compost development and resultant compost extracts on wheat seedling growth, *Bioresource Technol.*, 2010, 101(14), 5658–5666
- Sen B., Chandra T.S., Chemolytic and solid-state spectroscopic evaluation of organic matter transformation during vermicomposting of sugar industry wastes, *Bioresource Technol.*, 2007, 98(8), 1680–1683
- Sepúlveda E., Sáenz C., Aliaga E., Aceituno C., Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp, *J. Arid Environ.*, 2007, 68(4), 534–545
- Singh, D. P., Singh, H. B., Prabha, R., *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity: Vol. 1 research perspectives*, Springer, Berlin Heidelberg, NY, United States of America, 2016
- Solano, F., Iriarte, P., Ciria & Negro, M. J., Performance characteristics of three aeration systems in the composting of sheep manure and straw., *J. Agr. Eng. Res.*, 2001, 79(3), 317-329

- Sradnick A., Murugan R., Oltmanns M., Raupp J., Changes in functional diversity of the soil microbial community in a heterogeneous sandy soil after long-term fertilization with cattle manure and mineral fertilizer, *Appl. Soil Ecol.*, 2013, 63, 23-28
- Steiner, R., Curso sobre agricultura biológico-dinámica: Principios basados en la ciencia espiritual para el desarrollo de la agricultura, cursos para agricultores en Koberwitz 1924. Rudolf Steiner, Madrid, España, 2009
- Stoffella P.J. and Kahn B.A., Compost utilization in horticultural cropping systems, First Edition, CRC Press, Boca Raton, Flor., 2006
- Tatàno F., Pagliaro G., Di Giovanni P., Floriani E., Mangani F., Biowaste home composting: Experimental process monitoring and quality control, *Waste Manage.*, 2015, 38, 72–85
- Turner C., The thermal inactivation of *E. coli* in straw and pig manure, *Bioresource Technol.*, 2002, 83(1), 57-61
- United States Environmental Protection Agency (US EPA), Biosolids technology fact sheet use of composting for biosolids management, EPA/832-F-02-024, 2002
- Villanueva-Rey P., Vázquez-Rowe I., Moreira M.T., Feijoo G., Comparative life cycle assessment in the wine sector: Biodynamic vs. conventional viticulture activities in NW Spain, *J. Clean. Prod.*, 2014, 65, 330–341
- Von Wistinghausen C., Scheibe W., von Wistinghausen E., König U. J., La elaboración de los preparados biodinámicos, Editorial Rudolf Steiner, España, 2000
- Wang L., Oda Y., Grewal S., Morrison M., Michel F.C., Yu Z., Persistence of resistance to erythromycin and tetracycline in swine manure during simulated composting and lagoon treatments, *Microb. Ecol.*, 2012, 63(1), 32–40

Yang L., Zhang S., Chen Z., Wen Q., Wang Y., Maturity and security assessment of pilot-scale aerobic co-composting of penicillin fermentation dregs (PFDs) with sewage sludge, *Bioresource Technol.*, 2016, 204, 185–191

## **Biodynamic preparations on static pile composting from prickly pear cactus and moringa crop wastes**

**Running title: Biopreparations on static piles from regional crop wastes**

### **Abstract**

Biodynamic agriculture surged as an alternative almost a century ago, considering biodynamic preparations (BP) and compost as essential to farms sustainability. Composting is a way to obtain either biofertilizers or soil amendments, whereas static piles method reduce energy and cost because no turnings are needed. The present study aims to evaluate the BP effect on physical, chemical and biological properties of static piles compost from prickly pear cactus and moringa crop wastes (regional principal substrates) over 100 days of composting. Experiment was carried out in an organic farm (Nuevo León, Mexico) considering four treatments: T1, Prickly pear cactus+BP; T2, Moringa+BP; T3, Prickly pear cactus and T4, Moringa. Results showed significantly highest bacterial activity ( $p < 0.05$ ) on T1 (until  $1.38 \times 10^{10}$  CFU), therefore highest temperatures and mineralization. Treatments with prickly pear cactus attained the highest temperatures, compared with those with moringa (significantly in 71% of total sampling days,  $p < 0.05$ ). Aerobic environment was maintained by the passive aeration system (holed PVC pipes placed at the bottom layer). Final material was considered sanitized, according to Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* and *Salmonella/Shigella* analysis for quality control. Results indicate the BP efficiency on regional substrates decomposition, by using static piles method.

**Key words:** microorganisms, mineralization, *Moringa oleifera*, *Opuntia ficus-indica*, principal component analysis

## **Introduction**

The biodynamic agriculture (BA) surged during the first half of 1920's as an alternative way to produce in a sustainable and self-sufficient way (Pfeiffer 2011). The fundamentals of the biodynamic movement were presented by the Austrian philosopher Rudolf Steiner (in Koberwitz, currently Poland), who accepted the farmers requesting to give an answer to the progressive soil fertility, seed viability and animal health decrease (Steiner 2009). The BA has common characteristics with the organic production, such as crop rotation, use of biofertilizers, pests and diseases biocontrol, but the holistic biodynamic approach considers the inclusion of farm animals and plants. Moreover, the cornerstone of the biodynamic farming is the biodynamic preparations (BP), sprayed in the soil and crops and applied in compost. There are six BP used on the compost, exposed to a fermentation period from 6 months to 1 year and buried in the topsoil. After the BP harvest, those are applied at rates between 1 and 5 g approximately (von Wistinghausen et al. 2000, Reeve et al. 2010).

Although the BA has been practiced during almost a century, reports and information in peer reviewed journals are still scarce regarding the discernible effect of BP on the final compost product (Carpenter-Boggs et al., 2000; Reeve et al. 2010). In most of the countries, the BA is not well known, such as Mexico, where currently can be found more than 83,000 organic farms, but only 5 biodynamic (from <https://www.demeter.net/>). Nevertheless, the attention has been increasing in different continents, growing in area and members, such as Asia, America, Africa, but especially in Europe (Villanueva-Rey et al. 2014).

Despite to the low interest of the alternative ways to produce, neither the techniques to produce soil improvement promoters, biofertilizers, disease and pest biocontrols nor the social or environmental impact of the agriculture have received a considerable scientific attention. During the last decades organic wastes coming from industrial or agricultural sector are under increase, which deserve more attention in order to develop and improve the optimal management of those wastes. Within those

methods, the composting process is a way to reduce the odors coming from the uncontrolled decomposition of organic matter, the ambient contamination, the potential human pathogenic microorganisms, while it is obtained a high extra value sub-product, which improves physical, chemical and biological characteristics in the soil (Stoffella and Kahn 2006). However, the conditions for an optimal process must be considered, such as moisture content, aeration rate, bulk density, carbon:nitrogen ratio (C:N) and energy cost. The compost maturity is a key parameter to evaluate its quality and positive effect through its application (Sen et al. 2007).

The static pile composting promotes an efficient process mainly by energy and costs reduction, because of no turning is needed (Hubbe et al. 2010). Nasini et al. (2016) reported the use of static piles composting and its efficiency to convert olive oil extraction and grape transformation by-products into high quality soil amendment, considering the stability, maturity and environmental impact.

The design and management of biodynamic composting processes for farmers from areas of under-developed countries need to be addressed to the energy and cost reduction. Therefore, the purpose of this study is to evaluate the influence of one of the biodynamic agriculture fundamentals, the BP. The composting process was carried out by as static piles, using the crop wastes of prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica* L. Mill.) and moringa (*Moringa oleifera* Lam.) as principal substrates. This is the first study on evaluating the BP effect focusing on the complete lack of energy, typically used for the piles turning or aeration system. Furthermore, the whole process was carried out under local conditions and without a specific materials modification, making it easily to implement.

## Materials and methods

### Experiment location

The experiment was established under open field conditions in the organic farm “Zu-Nopalito” (certified by BioAgriCert), located in Zuazua, Nuevo León (25° 53' N, 100° 02' W), about 355 m above sea level and an annual precipitation of 520 mm.

### Biological material

The principal substrates for the static pile composting were prickly pear cactus and moringa crop wastes, coming from an organic farm and greenhouse under conventional production, respectively.

Dairy and chicken manure were used on each pile to adjust C:N ratio in a proportion of 1:1.

The compost BP (Table 1) were obtained from Demeter certified farm “El Equimite” (Veracruz, Mexico).

Table 1. Biodynamic preparations identification number (IN) and components descriptions.

IN	Composition of biodynamic preparations
502	Yarrow blossoms ( <i>Achillea millefolium</i> L.)
503	Chamomile blossoms ( <i>Matricaria recutita</i> L.)
504	Stinging nettle shoots ( <i>Urtica dioica</i> L.)
505	Oak bark ( <i>Quercus robur</i> L.)
506	Dandelion flowers ( <i>Taraxacum officinale</i> L.)
507	Valerian flower extract ( <i>Valeriana officinalis</i> L.)

### Static pile composting

The materials proportions for each pile were calculated in order to obtain an initial approximate C:N ratio of 20:1. The final volume (2 m<sup>3</sup>) and total weight (1.5 ton) of each compost pile were similar, in order to decrease the variability may caused by the pile structure and dimensions (for all treatments:



1.3, 0.9 and 2.5 m of width, height and length, respectively). The substrates were arranged in three layers, about 30 cm height each one. Moringa and prickly pear cactus wastes were chopped up to obtain 5-10 cm pieces and used in the bottom layer to promote the aeration. In the middle and top layer plant materials were chopped up until obtaining a size lower than 5 cm to increase the mineralization. In each pile, the crops wastes were first placed above the ground to retain or decrease lixivates.

Four piles were constructed, two treated with BP and the other ones were analyzed as controls, without BP (T1, prickly pear cactus+BP; T2, moringa+BP; T3, prickly pear cactus; T4, moringa). The BP proportion consisted of 2 g of each solid preparation (502-506) and 5 mL of the liquid one (507). Masson and Masson (2013) mention the previous BP amount for 10-15 m<sup>3</sup> of raw material.

A micro-sprinkler system was installed for the compost piles irrigation. The irrigation time was the same for all treatments, calculated after the moisture analysis, in order to attain an adequate environment for microorganism development (approximately 60% moisture). Water was obtained from a ground water storage.

### **Chemical, physical and biological analyses of compost piles**

Five samples per treatment were taken and analyzed on a specific frequency depending on the parameter and according the value change over time. On each sampling day, samples were taken along the 2.5 m length and at a half depth of the pile. The different parameters values were the way to decide when the compost was “ready”, but principally the microorganism activity and temperature stabilization (near ambient), considered as the cooling stage (Hubbe et al. 2010).

### **Physical parameters**

Temperature reading interval was modified depending on the temperature rising or decreasing rates. Three different layers were monitored (bottom, middle and top), with thermometers placed at 8 locations along the length of the pile. The moisture percentage was determined by drying at constant

temperature of 105 °C for 24 hours (Escudero et al. 2012). The total volume was calculated by the difference between the final and initial compost piles dimensions.

### **Chemical parameters**

Electrical conductivity (EC) and pH value were measured in a 1:10 compost:water extract (Nasini et al. 2016), using a multiparameter meter (Thermo Scientific Orion 4-Star).

The compost samples were ashed using a muffle furnace set to 400°C over 24 h, where the organic matter (OM) content was calculated with initial and final difference weight (Solano et al. 2001). Compost total nitrogen was quantified using a Kjeldahl digestion procedure (Etheridge et al. 1998). The P content was determined using the vanadate-molybdate method with a spectral photometer (Krey et al. 2013). The K, Ca, Mg, Cu, Zn, Fe and Mn content were estimated by atomic absorption spectroscopy (UNICAM Solar®, model 9626).

### **Biological parameters**

All samples were prepared in a 1:10 dilution (sample: potassium phosphate buffer) and in consecutive dilutions until the optimal counts of the target microorganisms were reached, ranging from 30-300 CFU (Wang et al. 2012). 1:10<sup>6</sup> and 1:10<sup>7</sup> dilutions were used to assess yeast/fungus and bacteria growth, respectively.

The inoculation of 1 mL per sample was done in 3M™ Petrifilm™ plates. For yeast and fungus, 3M™ Petrifilm™ RYM plates were incubated at 28°C +/- 2°C during 5 days. For bacteria, 3M™ Petrifilm™ AC Plates were incubated at 35°C +/- 2°C for 48 h. Final enumeration was done with the aid of a SOL-BAT Q-14 colony counter.

After 100 days period, samples were taken from different points considering the whole depth and length of the piles and analyzed for detection of Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*/Coliform and *Salmonella/Shigella*, by using respective count plates and incubation periods:

3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae/ ambient temperature for 24 h; 3M™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliform and Salmonella–Shigella Agar BBL for 48 h at 35°C±2°C.

### **Statistic design and analysis**

The values of the physical, chemical and biological parameters measured over the time (temperature, pH, EC, moisture percentage, C:N ratio, OM, nitrogen and microorganisms CFU) were analyzed by the selection of nonlinear regression models with criteria of the highest determination coefficient ( $R^2$ ) and minimum mean squared error. Sigma-plot software was used for regression analysis.

The data obtained of each variable in the different sampling points were subjected to an analysis of variance (ANOVA). Mean comparison was performed using Tukey honestly significance difference test ( $p < 0.05$ ). At the end of the experiment, 18 variables were analyzed and subjected to a principal component analysis (PCA). Statistical software package SPSS were used for ANOVA, means comparison and PCA.

## **Results**

### **Physical parameters**

During the first 24 hours, compost piles temperatures increased until a maximum of  $55.8 \pm 1.3^\circ\text{C}$ . Because of the high increase/decrease temperature rates between the first month, it was necessary to record thrice a week. Approximately 35 days from the material mixing the temperature showed a lower rate of change, recording it once weekly until it varied nearly the ambient temperature (from day 50).

By comparing layers within treatments, was observed that in piles with prickly pear cactus as principle substrate (T1 and T3), the mean temperature of the top and middle layer during the first 55 days were higher than those of the bottom layer, but statistically in 92% of the sampling days. By using moringa as principle substrate (T2 and T4), such differences were achieved until the day 52,

statistically in 81% of the cases. After those periods, temperatures were statistically similar between layers (Figure 1).

By comparing treatments per layer, Figure 1 depicts that the mean temperatures of treatments with prickly pear cactus (T1 and T3) were higher than those by using moringa (T2 and T4) during first 100 days of composting (except for the first 2 days in T1, upper layer), statistically in 71% of sampling days.

Significant temperature differences were found between treatments with and without BP. Regarding the piles with prickly pear cactus (T1 and T3) the mean temperatures of T1 were higher than T3 during 100 days of composting, but statistically in 64, 64 and 42% of the sampling days for the top, middle and bottom layers, respectively. In case of piles with moringa (T2 and T4), mean temperatures of T2 were higher than T4 for the top, middle (except first day) and bottom layers during 100 days of analysis, but statistically in 38, 38 and 31% of sampling days, respectively. Just 4% of the whole sampling days showed a higher mean temperature in a pile without BP, compared with the same principal substrate and BP.

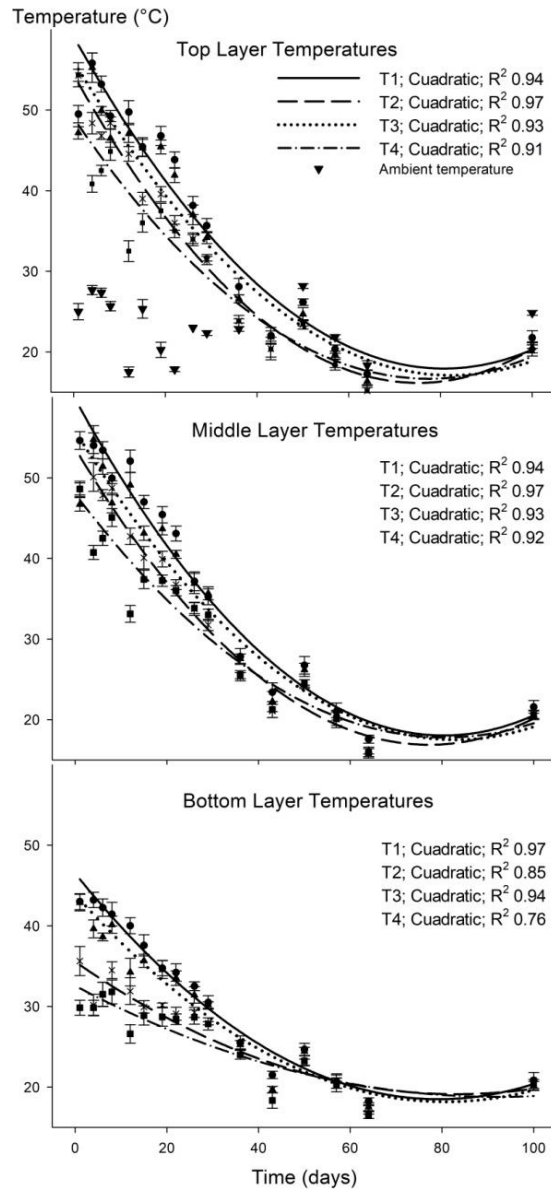


Figure 1. Mean temperature of static piles (T1 ● prickly pear cactus+BP; T2 × moringa+BP; T3 ▲ prickly pear cactus; T4 ■ moringa) per layer over the most active phases (100 days). Means ( $\pm$ SD) were calculated from five replicates for each treatment and sampling day. Statistically difference (Tukey test,  $p < 0.05$ ).

Piles moisture showed a significant difference at different sampling days. During the first eight days the moisture of T2 was statistically lower than other treatments. At day 64 the lowest moisture were

recorded for T1 and T3. And at the end of the analyzed period, lowest values were found in T1 and T4 (Figure 2).

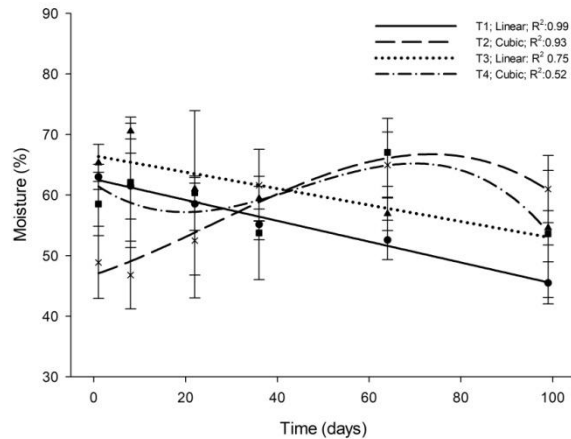


Figure 2. Moisture of static piles (T1 ● prickly pear cactus+BP; T2 x moringa+BP; T3 ▲ prickly pear cactus; T4 ■ moringa) over 100 days of analysis. Means ( $\pm$ SD) were calculated from five replicates for each treatment and sampling day. Statistically difference (Tukey test,  $p < 0.05$ ).

### Chemical parameters

The maximum and minimum pH values over the analyzed period (100 days) ranged between 8.2 and 9.3 (Figure 3). Significant differences of pH values were recorded for the following treatments and sampling days (time of composting): lowest value for T3, first day; maximum values for T2 and T4, day eight, 22, 36 and 100.

EC varied depending on the sample point and piles material. The statistically maximum values over the time were attained for the following treatments and sampling days; T2-T3 (first); T2-T4 (22) and T4 (100). The maximum value was showed at the end of period analyzed (T4,  $3.99 \pm 0.44 \text{ dS m}^{-1}$ ) (Figure 3).

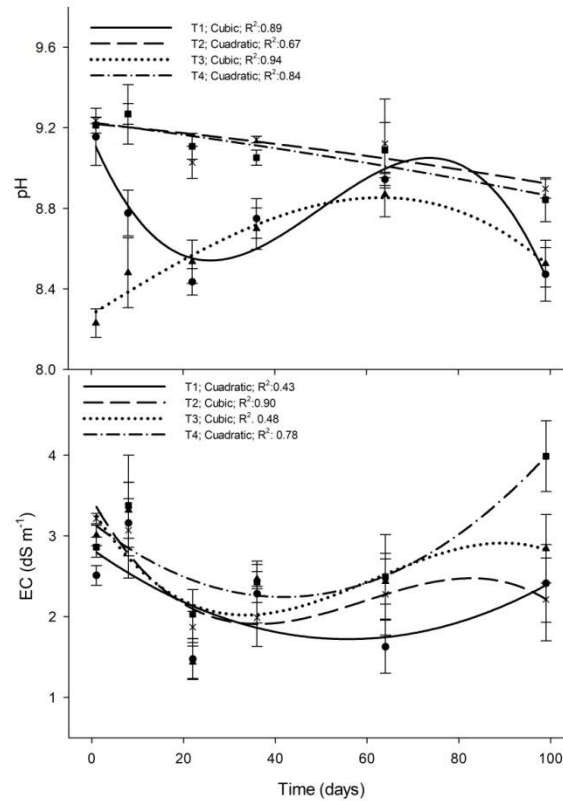


Figure 3. pH and Electrical conductivity (EC) of static piles (T1 ● prickly pear cactus+BP; T2 × moringa+BP; T3 ▲ prickly pear cactus; T4 ■ moringa) over 100 days of analysis. Means ( $\pm$ SD) were calculated from five replicates for each treatment and sampling day. Statistically difference (Tukey test,  $p < 0.05$ ).

OM, nitrogen and C:N ratio values decreased over the evaluated period and according to the different treatments. Significant differences of OM values were recorded for the following treatments and sampling days (time of composting): lowest value for T1, day 64; maximum values for T2 and T3, day 100. Nitrogen values showed the following significant differences for the respective treatments and sampling days: maximum values for T4 and minimum values for T1, day 36, 64 and 100. C:N ratio was significantly affected over the time, T2 and T4 showed the minimum values at day 36 and 100 of composting (Figure 4).

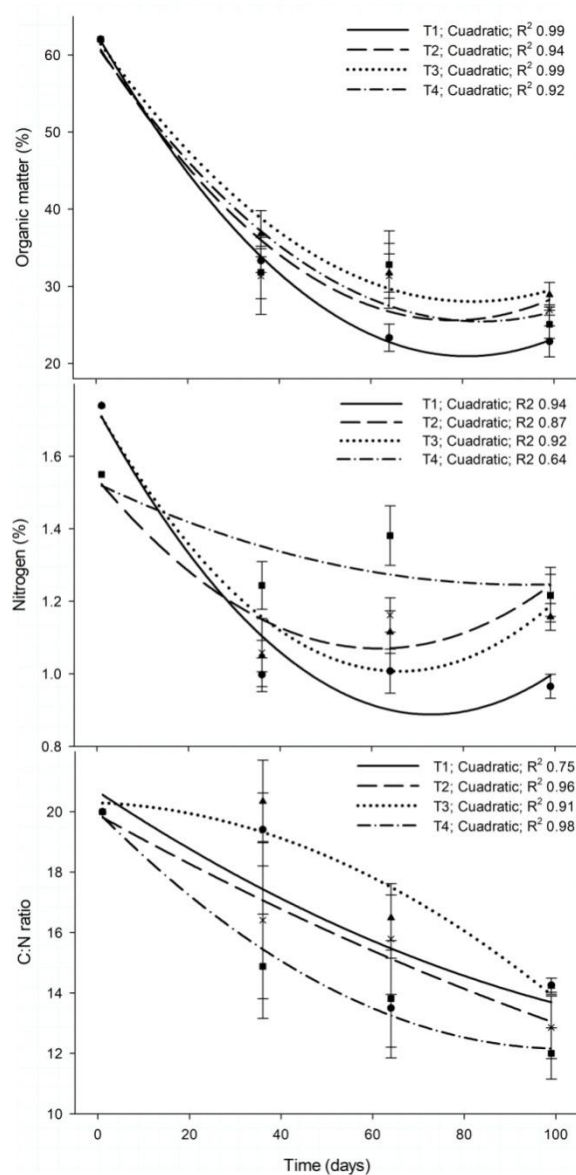


Figure 4. Organic matter, nitrogen (N) and C:N ratio of static piles (T1 ● prickly pear cactus+BP; T2 × moringa+BP; T3 ▲ prickly pear cactus; T4 ■ moringa) over 100 days of analysis. Means ( $\pm$ SD) were calculated from five replicates for each treatment and sampling day. Statistically difference (Tukey test,  $p < 0.05$ ).

By analyzing macro- and microelements in compost samples after 100 days composting, interactions between evaluated factors (BP use and compost substrate) were found for N, K, Zn and Mn values.



BP inclusion showed a highly statistical difference ( $p < 0.01$ ) in K and Mn concentrations. Statistically higher values ( $p < 0.01$ ) of Ca/Mg and Cu were found in compost from prickly pear cactus and moringa substrates, respectively (Figure 5).

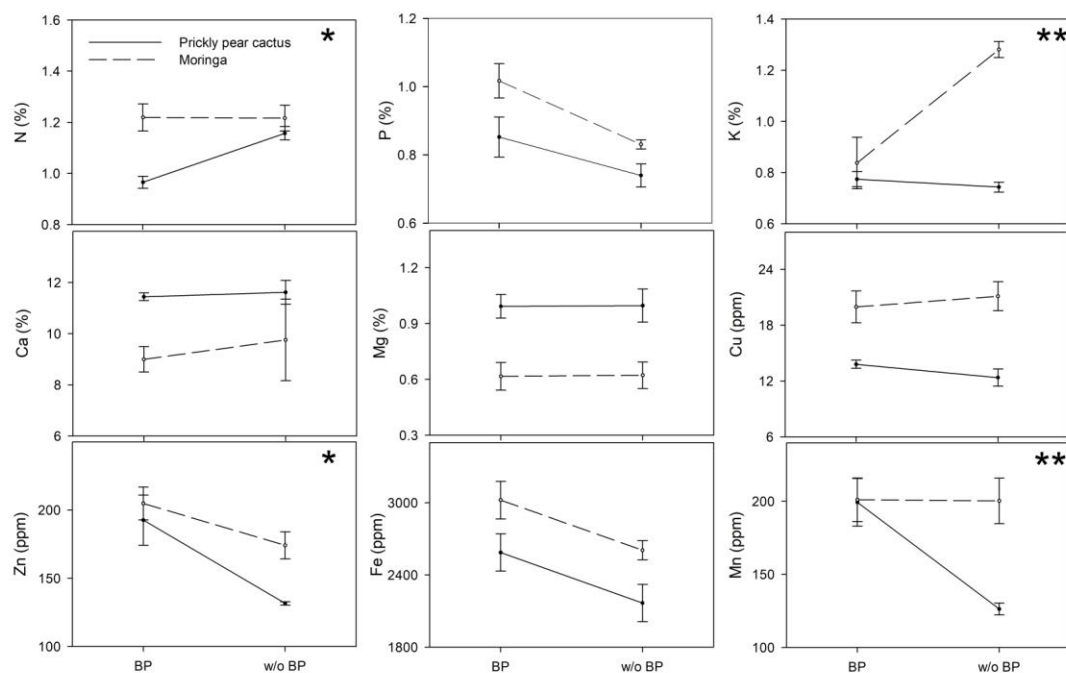


Figure 5. Compost macro- and microelements after 100 days composting and its significant ( $*p < 0.05$ ) and highly significant ( $**p < 0.01$ ) interaction between evaluated factors (BP:Biopreparations and compost substrate). Means ( $\pm$ SD) were calculated from five replicates for each treatment and sampling day.

### Biological parameters

Total microorganism population (CFU  $g^{-1}$  compost) in the biological material showed the highest values in biodynamic preparations than crop and animal organic wastes (Table 2).

Table 2. Total molds, yeast and bacteria (CFU  $g^{-1}$  compost) in principal substrates and biodynamic preparations used in static piles.

Substrate and Biodynamic preparations	Molds and yeast (CFU g <sup>-1</sup> )	Bacteria (CFU g <sup>-1</sup> )
Prickly pear cactus	4.20x10 <sup>6</sup>	7.35x10 <sup>4</sup>
Moringa	1.03x10 <sup>6</sup>	3.20x10 <sup>5</sup>
Cow manure	2.00x10 <sup>6</sup>	2.49x10 <sup>5</sup>
Chicken manure	2.50x10 <sup>6</sup>	5.52x10 <sup>5</sup>
Biodynamic preparations		
502	3.75x10 <sup>7</sup>	9.80x10 <sup>6</sup>
503	1.66x10 <sup>7</sup>	3.20x10 <sup>7</sup>
504	6.00x10 <sup>6</sup>	4.40x10 <sup>6</sup>
505	3.50x10 <sup>6</sup>	4.80x10 <sup>6</sup>
506	7.50x10 <sup>6</sup>	3.18x10 <sup>7</sup>
507	1.28x10 <sup>7</sup>	2.38x10 <sup>7</sup>

Total bacteria, molds and yeast populations (CFU g<sup>-1</sup>) contained in compost piles showed significant difference over the time. Bacteria population values showed the significant differences for the following treatments and sampling days: maximum values for T2 and T4, day 8; T1, day 22; T1, T2 and T3, day 36; T3 and T4, day 64. The maximum value for bacteria was attained for the T1 at day 22

(1.38x10<sup>10</sup>±3.04x10<sup>9</sup>). Molds and yeast population values were significantly higher for the following treatments and sampling days: T2 and T4, day 8; T3, day 64. The maximum yeast and molds population was found in T3 at day 64 (7.20x10<sup>7</sup>±0.00) (Figure 6).

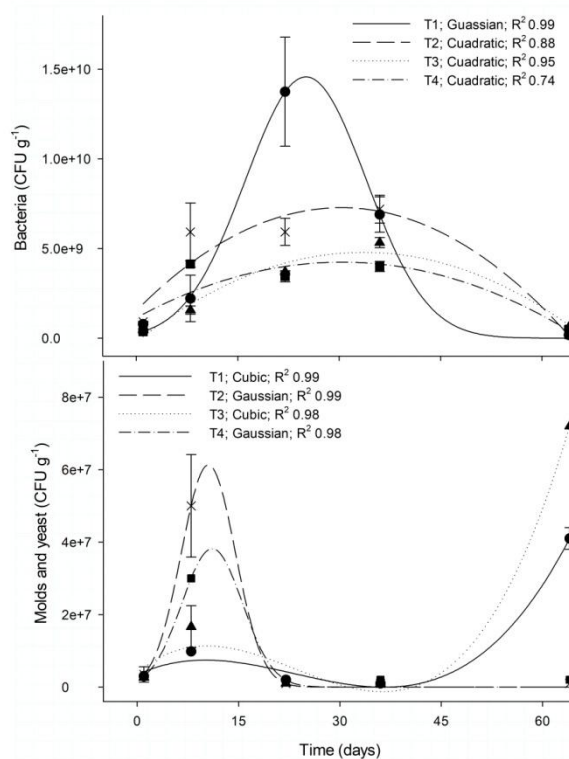


Figure 6. Total CFU g<sup>-1</sup> compost of bacteria, molds and yeast in static piles (T1 ● prickly pear cactus+BP; T2 × moringa+BP; T3 ▲ prickly pear cactus; T4 ■ moringa) over 65 days of analysis. Means (±SD) were calculated from five replicates for each treatment and sampling day. Statistically difference (Tukey test, p<0.05).

Regarding the Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*/Coliform and *Salmonella/Shigella* analysis, a concentration of 62 CFU *Escherichia coli*/Coliform per gram of compost (dry weight basis) were detected in T3.

### Physical, chemical and biological variables interaction through a PCA

The first and second principal components were selected, which explain approximately 89% of the total variance. The first component showed correlation between N, P, K, Cu, Zn, Fe, Mn, pH and volume, associated to T4. Moreover, in the same component a correlation between calcium, magnesium and C:N ratio was associated to T1. The second component showed a correlation

between bacteria and temperature, associated to T1 and T2. In addition to a correlation between EC, OM, molds and yeast, associated to T3 (Figure 7).

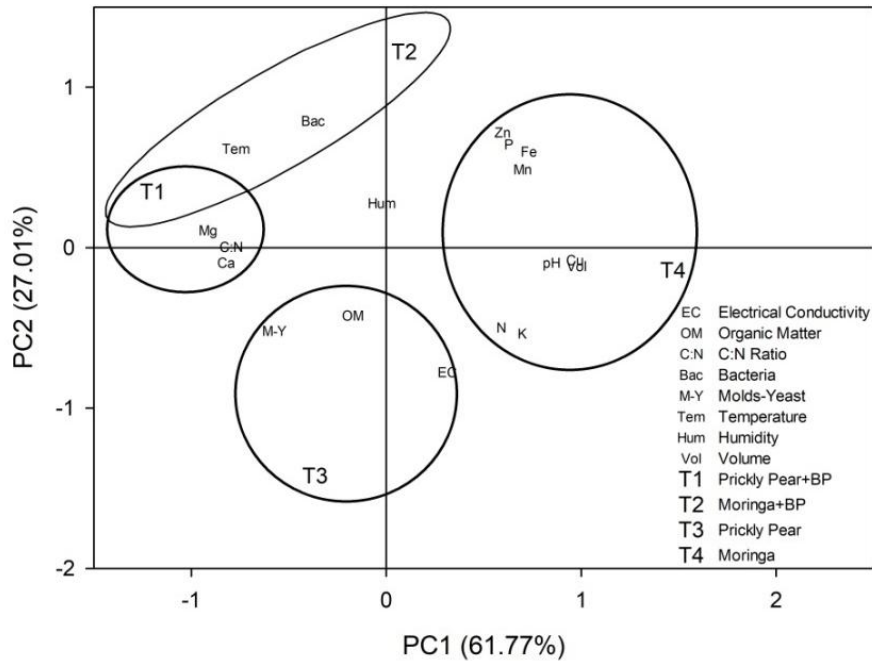


Figure 7. Principal component analysis of physical, chemical and biological variable of static piles. BP: biodynamic preparations, N: nitrogen; P: phosphorus; K: potassium, Ca: calcium, Mg: magnesium, Cu: copper, Zn: zinc, Fe: iron, Mn: manganese.

## Discussion

### Physical parameters

By analyzing layers temperatures per treatment, increasing values over time (suggesting microbial activity) showed the passive aeration system efficacy on maintaining an aerobic environment, without piles turning. Maximum differences between upper (top and middle) and bottom layers temperatures were 12.6, 19.9, 15.6 and 24.5°C in T1, T2, T3 and T4, respectively (achieved during the first four days), because of the holed PVC pipes placed above the ground. The lowest increase

temperature of bottom layers in piles with moringa (T2 and 4) contributed for the maximum differences (Figure 1).

Temperature values were not the same for entire piles, the middle and top layer from each treatment achieved values above 50°C, being optimal for the composting process (Isobaev et al. 2014). On the other hand, the piles dimensions drawback was the temperature attained in bottom layers (under 45°C). However, it could be modified in order to reach the desirable value by increasing the piles height. Under the traditional turned windrow composting, the bottom layer temperature increases at the same or higher level than upper layers (Hubbe et al. 2010; Luo et al. 2008).

In Figure 1, the comparison between principal substrates (T1 and T3 vs T2 and T4) shows the highest mean temperatures in static piles with prickly pear cactus, because of the optimal growth conditions for the microorganisms, promoted by mucilage. This polymeric compound of carbohydrate substances is considered as an optimum microorganisms growth medium, containing L-arabinose, D-Galactose, L-rhamnose, D-xylose, galacturonic acid in various proportions, low acidity and high soluble solids content (Gebresamuel and Gebre-Mariam 2012). It is structured by pectin and mucilage, with Ca<sup>2+</sup>/gelling and no gelling properties, respectively (Matsuhira et al. 2006; Sepúlveda et al. 2007).

By comparing treatments temperatures per layers, the mean values of piles with BP were higher than those with the same substrate and without BP. The significant differences during the 100 days of composting showed the effect of BP inclusion on the temperature increase, which is a consequence of the microorganism activity on organic matter decomposition, producing heat as energy release (Yang et al. 2016). Researchers report the acceleration on decomposition process by using the BP on compost, it showed higher temperatures, nitrogen content, dehydrogenase enzyme activity (suggesting higher microbial activity), nutrient holding capacity, microorganism population, in

contrast with the untreated compost (Carpenter-Boggs et al. 2000; Mäder et al. 2002; Sradnick et al. 2013).

The maintenance of the mentioned temperature guarantee the sanitization and hygienization of the composting product, referring to weed seeds, potential human and plant disease development (Barberi 2002; Cayuela et al. 2008; Deportes et al. 1998). The United States Environmental Protection Agency (EPA) specify about 55°C for at least 3 and 15 days in aerated static pile or in-vessel and in turned windrow composting (5 turns), respectively, as the temperature requirement for biosolids composting. The EPA refers usually to the marketable end product as Class A, which provides physical-chemical characteristics to the soil as an organic fertilizer and without pathogen detectable levels (US EPA 2002).

The moisture behavior was a temperature increase function. The lowest values were observed in treatments with BP, because of the highest temperature increase. However, the moisture over the analyzed period ranged between an optimum value for microorganism population development (Figure 2). Moisture has been cited as a critical parameter for systems optimization (Luo et al. 2008), it depends on the correct materials selection and mixing proportion.

### **Chemical parameters**

Masson and Masson (2013) consider an optimal initial C:N ratio of 30:1. However, the principal substrates used in the present study contained a low C:N ratio (prickly pear cactus 24.88, moringa 36.67, chicken manure 8.02, cow manure 13.77) to attain the optimal value after mixing. The management of low values C:N ratio in the piles can increase the use of manures, nevertheless, it also increases the loss of nitrogen in the form of  $\text{NH}_3$  or  $\text{NH}_4^+$ , depending on the pH (Hubbe et al. 2010).

In Figure 3, by comparing pH behavior between piles with the same substrate, can be observed the difference between T1 and T3 during the first days, because of the maximum microbial activity in

T1, releasing  $\text{NH}_3$  to the medium and increasing pH value (Singh et al. 2016). Differences between treatments with prickly pear and moringa were obtained over the time because of the nature of the material.

EC values evolution over time depended of multiple variable interactions. The progress in the composting process was reflected through the increase/decrease rates, attaining values between  $1.3 \pm 0.3$  to  $4.0 \pm 0.44$   $\text{dS m}^{-1}$  over the 100 day composting (Figure 3). Such behavior is generally expected, as results from Tatàno et al. (2015), who reported increasing values in different experimental composters, with values up to  $5.5$   $\text{dS m}^{-1}$ .

Although at day 100 of composting there was no C:N ratio statistical difference between piles with the same principal substrate, there is needed to study the individual factors where it comes from (Figure 4). By analyzing OM and N between piles with prickly pear cactus, T1 showed statistically lower values than T3, which propose a higher material decomposition in the first one. The highest OM reduction was promoted by the BP inclusion and substrate. Similar results during composting processes were reported by Gigliotti et al. (2012), where the OM loss reached values around 50% and Jiang et al. (2011) found a total organic carbon loss about 33.8% to 54.0%. In piles with moringa, OM values were statistically similar with and without BP inclusion, but N concentration at day 36 and 64 of composting were significantly lower in those with BP due to element volatilization or lixiviation, promoted by microorganism activity, temperature, moisture and its interaction (Singh et al. 2016).

Nitrogen concentration of different treatments decreased over the time, however during the coldest period (between day 65-80, average  $15^\circ\text{C}$ ) were observed the lowest nitrogen levels (Figure 1 and 4). After the mentioned period, ambient temperature started increasing, as well as the nitrogen concentration for all treatments. We can assume that microorganisms increased together with temperature, which may be the responsible of nitrogen fixation, as Singh et al. (2016) mention that

free living bacteria play an important role in this process. Similar results were obtained by Gigliotti et al. (2012), who reported the nitrogen increase from day 47 to 126, with values from 0.89 to 1.76%, respectively. Further studies are suggested to analyze the behavior of nitrogen increase related to microorganisms.

### **Biological parameters**

Total bacteria CFU were statistically higher in piles with BP (T1 and T2) than those without BP (T3 and T4), observed in Figure 6. Such results agree with Reeve et al. (2010), who reported that BP (as fermented substances) stimulates organisms present in the raw material, which increase microorganism activity followed by decomposition increase. Masson and Masson (2013) refer that under biodynamic pile composting, temperatures above 55°C are not required because the microorganism population can be negative affected. It is known that between the whole microorganism population in the soil (about 1.5 billion CFU per gram), 2-5 % belongs to the beneficial microorganisms, improving processes as the nitrogen fixation, phosphorus solubilization, increasing iron availability to the plant, etc. (Stoffella and Kahn 2006). Molds and yeast were the first microorganism to colonize different treatments. As Stoffella and Kahn (2006) reports, these are the first kind of microorganism that breakdown the material to continue with the bacteria population increase.

Enterobacteriaceae, *Salmonella* and *Shigella* were not detected through the compost piles length and depth, but in T3 *Escherichia coli*/Coliform were below detectable levels to be considered as a sanitized material (Gantzer et al. 2001). These results showed that the sanitization or hygienization not only depends on the temperature, but on the substrate material source. Turner (2002) demonstrated that at 55°C *E. coli* inactivation occurs rapidly, but at 50°C may depend on moisture and nature of the material. Moreover, explain that the bacterial pathogens destruction could depend not only on temperature, but on free ammonia concentration, heat duration and microorganisms



biocontrol and competition (Singh et al. 2016). Other authors report the no detection of *Escherichia coli* 0157:H7 (food-borne infectious pathogen of public health importance that causes diarrhea and hemorrhagic colitis) and *Salmonella enteritidis* by lower temperatures during periods of 72 and 48 h, respectively, or considering degree days about 180 and 300 (Lung et al. 2001; Hess et al. 2004). Droffner and Brinton (1995) examined *Salmonella* and *Escherichia coli* during aerobic composting of municipal wastes and biowastes, suggesting that the microorganisms removal is complex and not merely depends on thermal physical environment. In the same study, both bacteria survived at about 60°C, but became undetectable during the cooling and curing stage.

The microbial activity is strongly correlated with the increase and decrease of temperature, hence its importance to be monitored in order to evaluate the composting process efficiency and stabilization (Bustamante et al. 2008).

#### **Physical, chemical and biological variables interaction through a PCA**

The PCA agree with the results above described, regarding the association between compost piles and variables behavior over time. Macro- and microelements were correlated (except Ca and Mg) and associated to T4, because of the lowest decomposition rate and elements still found in the raw material. In addition, the correlation of variables related to microbial activity (temperature and bacteria) associated with T1 and T2 is confirmed, promoted by the BP inclusion. The highest C:N ratio associated to T1 was promoted by the microbial activity (mainly bacteria) and nitrogen lost (Figure 7).

#### **Conclusions**

BP promoted the microorganisms reproduction (principally bacteria), temperatures increase and decomposition of the raw material, in comparison with those piles without BP. The use of prickly pear cactus as principal substrate affected positively the composting process. The combination of

both factors previously described attained the best quality final compost in the present study (T1, prickly pear cactus+BP).

The passive aeration system provided enough air flux to the system, maintaining an aerobic environment without need of turning. Further analyses, confirmed the sanitization of the final compost.

### **Acknowledgments**

The authors are hereby grateful to the National Council for Science and Technology (Mexico), for the economic support to carry out the present study.

The authors declare no conflicts of interest.

### **References**

- Barberi P., Weed management in organic agriculture: Are we addressing the right issues?, *Weed Res.*, 2002, 42(3), 177–193
- Bustamante M.A., Paredes C., Marhuenda-Egea F.C., Pérez-Espinosa A., Bernal M.P., Moral R., Co-composting of distillery wastes with animal manures: Carbon and nitrogen transformations in the evaluation of compost stability, *Chemosphere*, 2008, 72(4), 551–557
- Carpenter-Boggs L., Reganold J.P., Kennedy A.C., Effects of biodynamic preparations on compost development, *Biol. Agric. Hortic.*, 2000, 17(4), 313–328
- Cayuela M.L., Millner P.D., Meyer S.L.F., Roig A., Potential of olive mill waste and compost as biobased pesticides against weeds, fungi, and nematodes, *Sci. Total Environ.*, 2008, 399(1-3), 11–18
- Deportes, Benoit-Guyod, Zmirou, Bouvier, Microbial disinfection capacity of municipal solid waste (MSW) composting, *J. Appl. Microbiol.*, 1998, 85(2), 238–246
- Droffner M.L., Brinton W.F., Survival of *E. coli* and *Salmonella* populations in aerobic thermophilic composts as measured with DNA gene probes, *Zbl. Hyg. Umweltmed.*, 1995, 197(5), 387–397

- Escudero A., González-Arias A., del Hierro O., Pinto M., Gartzia-Bengoetxea N., Nitrogen dynamics in soil amended with manures composted in dynamic and static systems, *J. Environ. Manage.*, 2012, 108, 66–72
- Etheridge R.D., Pesti G.M., Foster E.H., A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory, *Anim. Feed Sci. Tech.*, 1998, 73(1-2), 21–28
- Gantzer C., Gaspard P., Galvez L., Huyard A., Dumouthier N., Schwartzbrod J., Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge, *Water Res.*, 2001, 35(16), 3763–3770
- Gebresamuel N. and Gebre-Mariam T., Comparative Physico-Chemical Characterization of the mucilages of two cactus pears (*Opuntia* spp.) obtained from Mekelle, Northern Ethiopia, *J. Biomater. Nanobiotech.*, 2012, 03(01), 79–86
- Gigliotti G., Proietti P., Said-Pullicino D., Nasini L., Pezzolla D., Rosati L., Porceddu P.R., Co-composting of olive husks with high moisture contents: organic matter dynamics and compost quality, *Int. Biodeter. Biodegr.*, 2012, 67, 8-14
- Hess T.F., Grdzlishvili I., Sheng H., Hovde C.J., Heat Inactivation of *E. coli* During Manure Composting, *Compost Sci. Util.*, 2004, 12(4), 314–322.
- Hubbe M.A., Nazhad M., Sánchez C., Composting as a way to convert cellulosic biomass and organic waste into high-value soil amendments: A Review, *Bioresources*, 2010, 5(4), 2808–2854
- Isobaev P., Bouferguene A., Wichuk K.M., McCartney D., An enhanced compost temperature sampling framework: Case study of a covered aerated static pile, *Waste Manage.*, 2014, 34(7), 1117–1124

- Jiang T., Schuchardt F., Li G., Guo R., Zhao Y., Effect of C/N ratio, aeration rate and moisture content on ammonia and greenhouse gas emission during the composting, *J. Environ. Sci.-China*, 2011, 23(10), 1754-1760
- Krey T., Vassilev N., Baum C., Eichler-Löbermann B., Effects of long-term phosphorus application and plant-growth promoting rhizobacteria on maize phosphorus nutrition under field conditions, *Eur. J. Soil Biol.*, 2013, 55, 124–130
- Lung A.J., Lin C.-M., Kim J.M., Marshall M.R., Nordstedt R., Thompson N.P., et al., Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Enteritidis* in Cow Manure Composting, *J. Food Protect.*, 2001, 64(9), 1309–1314
- Luo W., Chen T.B., Zheng G.D., Gao D., Zhang Y.A., Gao W., Effect of moisture adjustments on vertical temperature distribution during forced-aeration static-pile composting of sewage sludge, *Resour. Conserv. Recy.*, 2008, 52(4), 635–642
- Masson, P. and Masson, V., *Landwirtschaft, Garten- und Weinbau biodynamisch*, AT Verlag, Deutschland, 2013
- Matsuhiro B., Lillo L.E., Sáenz C., Urzúa C.C., Zárate O., Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*, *Carbohydr. Polym.*, 2006, 63(2), 263–267
- Mäder P., Fliebbach A., Dubois D., Gunst L., Fried P., Niggli U. Soil fertility and biodiversity in organic farming, *Sci./AAAS*, 2002, 296, 1694-1697
- Nasini L., Luca G. de, Ricci A., Ortolani F., Caselli A., Massaccesi L., Regni L., Gigliotti G., Proietti P., Gas emissions during olive mill waste composting under static pile conditions, *Int. Biodeter. Biodegr.*, 2016, 107, 70–76
- Pfeiffer, E.E., *Pfeiffer´s introduction to biodynamics*, Floris Books, United Kingdom, 2011

- Reeve J.R., Carpenter-Boggs L., Reganold J.P., York A.L., Brinton W.F., Influence of biodynamic preparations on compost development and resultant compost extracts on wheat seedling growth, *Bioresource Technol.*, 2010, 101(14), 5658–5666
- Sen B., Chandra T.S., Chemolytic and solid-state spectroscopic evaluation of organic matter transformation during vermicomposting of sugar industry wastes, *Bioresource Technol.*, 2007, 98(8), 1680–1683
- Sepúlveda E., Sáenz C., Aliaga E., Aceituno C., Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp, *J. Arid Environ.*, 2007, 68(4), 534–545
- Singh, D. P., Singh, H. B., Prabha, R., *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity: Vol. 1 research perspectives*, Springer, Berlin Heidelberg, NY, United States of America, 2016
- Solano, F., Iriarte, P., Ciria & Negro, M. J., Performance characteristics of three aeration systems in the composting of sheep manure and straw., *J. Agr. Eng. Res.*, 2001, 79(3), 317-329
- Sradnick A., Murugan R., Oltmanns M., Raupp J., Changes in functional diversity of the soil microbial community in a heterogeneous sandy soil after long-term fertilization with cattle manure and mineral fertilizer, *Appl. Soil Ecol.*, 2013, 63, 23-28
- Steiner, R., *Curso sobre agricultura biológico-dinámica: Principios basados en la ciencia espiritual para el desarrollo de la agricultura, cursos para agricultores en Koberwitz 1924*. Rudolf Steiner, Madrid, España, 2009
- Stoffella P.J. and Kahn B.A., *Compost utilization in horticultural cropping systems*, First Edition, CRC Press, Boca Raton, Flor., 2006
- Tatàno F., Pagliaro G., Di Giovanni P., Floriani E., Mangani F., Biowaste home composting: Experimental process monitoring and quality control, *Waste Manage.*, 2015, 38, 72–85
- Turner C., The thermal inactivation of *E. coli* in straw and pig manure, *Bioresource Technol.*, 2002, 83(1), 57-61

- United States Environmental Protection Agency (US EPA), Biosolids technology fact sheet use of composting for biosolids management, EPA/832-F-02-024, 2002
- Villanueva-Rey P., Vázquez-Rowe I., Moreira M.T., Feijoo G., Comparative life cycle assessment in the wine sector: Biodynamic vs. conventional viticulture activities in NW Spain, *J. Clean. Prod.*, 2014, 65, 330–341
- Von Wistinghausen C., Scheibe W., von Wistinghausen E., König U. J., *La elaboración de los preparados biodinámicos*, Editorial Rudolf Steiner, España, 2000
- Wang L., Oda Y., Grewal S., Morrison M., Michel F.C., Yu Z., Persistence of resistance to erythromycin and tetracycline in swine manure during simulated composting and lagoon treatments, *Microb. Ecol.*, 2012, 63(1), 32–40
- Yang L., Zhang S., Chen Z., Wen Q., Wang Y., Maturity and security assessment of pilot-scale aerobic co-composting of penicillin fermentation dregs (PFDs) with sewage sludge, *Bioresource Technol.*, 2016, 204, 185–191

**Date:** Feb 26, 2019  
**To:** "Heberto Antonio Rodas-Gaitán" heberto.rodas@yahoo.com  
**From:** "Open Agriculture" Agnieszka.Topolska@degruyter.com  
**Subject:** Your Submission

Ref.: Ms. No. OPAG-D-18-00117R1  
Biodynamic preparations on static pile composting from  
prickly pear cactus and moringa crop wastes  
Open Agriculture

Dear Dr. Heberto Rodas-Gaitán,

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in Open Agriculture.

It was accepted on Feb 26, 2019

Comments from the Editor and Reviewers can be found below.  
Please, send me the final version of your paper at Agnieszka.Topolska@degruyter.com

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards,  
Agnieszka Topolska, Ph.D.  
Managing Editor  
Open Agriculture

Comments from the Editors and Reviewers:

Reviewer #1: After the revision the paper has significantly improved and would be ready for publishing except of the following point still needs to be revised.

\* P14 L 4 I can't find the stated "BP inclusion showed a highly statistical difference ( $p < 0.01$ ) in Fe and P concentrations" within Fig 5! But instead of Fe and P the highly statistical difference are highlighted at K and Mn! Please change!

Reviewer #2: You have responded to all my comments, so I recommend your article for publication.

\*\*\*\*\*

---

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/opag/login.asp?a=r>)  
Please contact the publication office if you have any questions.