

## Influence of the starting feedstock materials to obtain suppressive compost

## Influencia de los materiales de partida para la obtención de compost supresivo

A. Hernández-Lara<sup>1\*</sup>, M. Ros<sup>1</sup>, C. Egea- Gilabert<sup>2,3</sup>, J.A. Pascual<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS). Campus Universitario de Espinardo, 30100 Murcia. Spain.

<sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

<sup>3</sup>Instituto de Biotecnología Vegetal, Edificio I+D+I, Universidad Politécnica de Cartagena, Campus Muralla del Mar, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

\*ahernandez@cebas.csic.es

### **Abstract**

**The composting process of organic wastes involves different benefits related to their recycling, since they can contribute to obtain organic growing media alternative to peat. Moreover, these materials can show properties with added value such as biofertilizing, biostimulating, and/or biocontrol capacity. In this work, two processes of composting using agri-food wastes have been studied to determine their suitability as growing media with potential suppressive. Both the composting process and the composts obtained were evaluated by studying different chemical properties and the microbial community. The results indicated the suitability of these materials as growing media. The composition of wastes used in the composting mixtures could show the suppressive capacity of the final composts, this effect being related to the microbial community.**

**Keywords:** bacterial; fungi; biocontrol; composting process.

### **Resumen**

**El proceso de compostaje de residuos orgánicos implica diferentes beneficios relacionados con su reciclaje, ya que pueden contribuir a la obtención de sustratos orgánicos alternativos a la turba. Además, estos materiales pueden presentar propiedades con valor añadido como capacidad biofertilizante, bioestimulante y / o biocontrol. En este trabajo se han estudiado dos pilas de compostaje utilizando residuos agroalimentarios para determinar su idoneidad como sustratos de cultivo con potencial supresor. Tanto el proceso de compostaje como los composts obtenidos se evaluaron mediante el estudio de diferentes propiedades químicas y la comunidad microbiana. Los resultados indicaron la idoneidad de estos materiales como sustratos de cultivo. La composición de los residuos utilizados en las mezclas de compostaje podría mostrar la capacidad supresora de los composts finales, estando este efecto relacionado con la comunidad microbiana.**

**Palabras clave:** bacterias; hongos; biocontrol; proceso de compostaje.

## **1. INTRODUCCIÓN**

Compostaje es un proceso de degradación de material de residuos orgánicos, liberación de calor y generación de materia orgánica estabilizada (1). Los microorganismos juegan un papel clave durante el proceso de compostaje ya que la presencia de ciertos microorganismos genera compost de calidad con valor agregado (1,2). La diversidad microbiana juega un papel clave

durante la maduración del compost y del proceso de compostaje, ya que son capaces de degradar las biomoléculas y de este modo obtener un compost maduro (2). La microbiota de los composts ha demostrado ser el principal factor responsable de la supresión. Para suprimir *Pythium irregulare* en lechugas baby-leaf se han utilizado residuos de tomate o puerro, tortas de almazara de las industrias del aceite de oliva y residuos de poda de viñedos de la industria vitivinícola (3).

Esta abundancia y diversidad microbiana durante el compostaje depende de las materias primas, temperatura, concentración de oxígeno, contenido de humedad, pH y relación C/N, afectando a la maduración y la calidad del compost (4). La materia prima inicial permite que la composición de nutrientes alimenten a los microorganismos y produzcan el aumento de temperatura que reducirá los patógenos de plantas y animales, y las malezas (4).

El objetivo fue determinar las principales diferencias en la comunidad microbiana en las diferentes fases del compostaje de diferentes mezclas de materias primas y su relación con propiedades químicas y actividad supresora.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### 2.1 Desarrollo del compostaje

Las tres pilas de compostaje fueron compuestas con diferentes dosis de materia prima de residuos agro-industriales. Pila TP: 47% poda de viñedos, 34% residuos de tomate y 19% residuos de puerro y pila TA: 42% poda de viñedos, 25% residuos de tomate y 33% alpeorajo. El proceso de compostaje fue monitoreado durante 226 días. Las muestras fueron recogidas de tres puntos diferentes en cuatro tiempos diferentes (fase inicial, termófila, biooxidativa y de maduración) correspondientes a los días 1, 70, 156 y 226.

### 2.2 Análisis de los parámetros químicos

La temperatura fue medida automáticamente cada seis horas (HOB0-Data Logger U12-006). El pH y la conductividad eléctrica (CE) fueron medidas en un extracto soluble 1:10 (p:v) usando el medidor Crison. El N y C total fueron medidos por ICP-OES (ICAP 6500 DUO).

### 2.3 Extracción de ADN y secuenciación

El ADN fue extraído de 0,5 g de compost usando el kit Dneasy PowerSoil (Qiagen, Alemania). La cantidad y calidad de los extractos de ADN fue cuantificada usando NanoDrop 2000 fluoroespectrómetro (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Los primers fueron 515F y 909R para bacterias, ITS4 y gITS7 para hongos. El estudio de la comunidad microbiana se realizó a través de la amplificación por PCR utilizando la plataforma Illumina.

### 2.4 Análisis bioinformático y estadístico

Para estudiar las diferencias en las propiedades de las pilas del compostaje, se aplicaron distintas pruebas estadísticas dependiendo de si se cumplían las condiciones de normalidad y homocedasticidad previamente comprobadas: Anova o Kruskal-Wallis. Se realizó un análisis de redundancia (RDA) a través del paquete vegan para visualizar la correlación entre los OTU y los parámetros químicos.

## **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Con los cambios en los factores ambientales, los microorganismos fueron reemplazados gradualmente. Los compost iniciales fueron colonizados por una amplia diversidad de hongos y bacterias, la mayoría de ellos capaces de controlar eficazmente al mismo tiempo a más de un patógeno. Filo Proteobacteria, Bacterioidetes, Firmicutes y Actinobacteria fueron las bacterias más abundantes en el presente estudio. La Actinobacteria aumentaron durante el proceso de compostaje, debido a su importancia en la degradación de celulosa, hemicelulosa y lignina (5). Encontramos un gran número de secuencias de Ascomycota y Basidiomycota en ambos compost, se ha informado que las poblaciones de hongos son las principales contribuyentes a la supresión

biológica (6). Ambos filos junto a Bacterioidetes, Proteobacterias y Actinobacterias han sido bien documentados para estar correlacionados con la supresión de patógenos transmitidos por el suelo que causan enfermedades de las plantas como *P. irregulare* (6). Ascomycota domina en todas las fases del compostaje debido a que puede secretar gran variedad de enzimas degradantes de celulosa y utilizar eficientemente los nutrientes en el compost. La abundancia de Basidiomycota en la fase termófila y de maduración podría deberse a que crecen bien a altas temperaturas (2), y esta pila permanece a alta temperatura durante más tiempo (datos no mostrados).

La alteración de los parámetros fisicoquímicos tiene influencia tanto directa como indirecta sobre las actividades de los microorganismos (7). El análisis de RDA reveló que la abundancia y composición de la comunidad de bacterias y hongos se ve afectada significativamente por diferentes parámetros fisicoquímicos. La comunidad bacteriana se vio claramente más afectada por los parámetros químicos que la comunidad fúngica durante las tres primeras etapas del compostaje, lo que indica que probablemente fue más sensible a las fluctuaciones ambientales que la comunidad fúngica (7).

#### 4. CONCLUSIONES

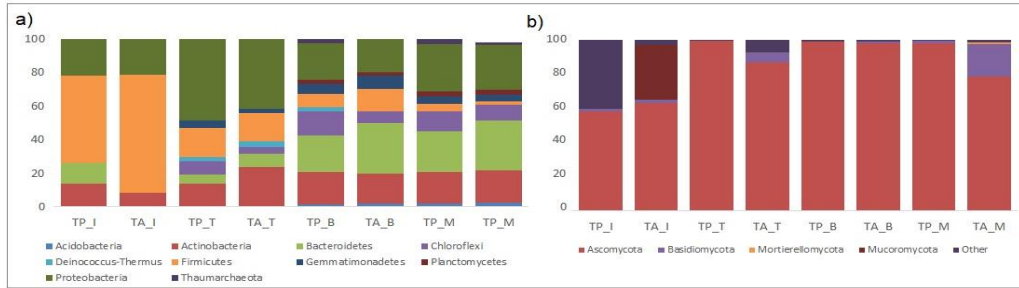
La composición de su microbiota está muy diversificada en relación con el origen de la materia prima. Nuestras dos pilas fueron colonizadas por una comunidad microbiana con actividad de biocontrol y capaces de suprimir enfermedades causadas por patógenos del suelo, como *Pythium* spp. Además, mostraron una madurez adecuada, por lo tanto, son una fuente rentable de microbiota. Se siguen realizando investigaciones para determinar qué tipos de biomasa residual representan la materia prima ideal para lograr los objetivos de supresión deseados.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

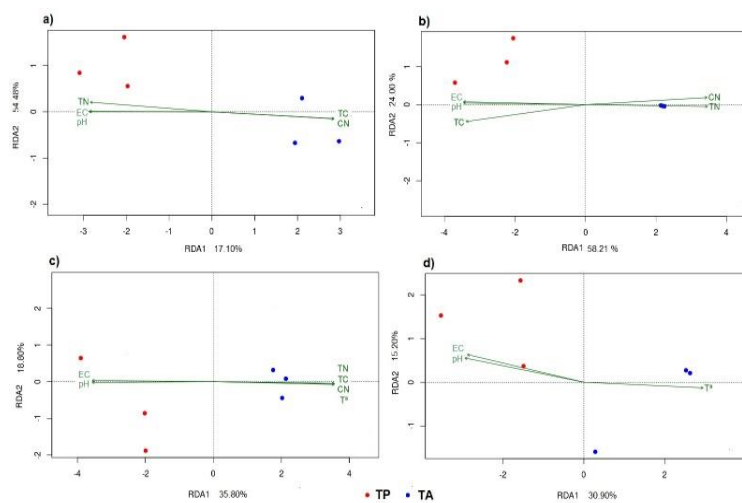
Al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad por la financiación recibida para llevar a cabo el proyecto AGL 2017-84085-C3-1-R.

#### 6. REFERENCIAS

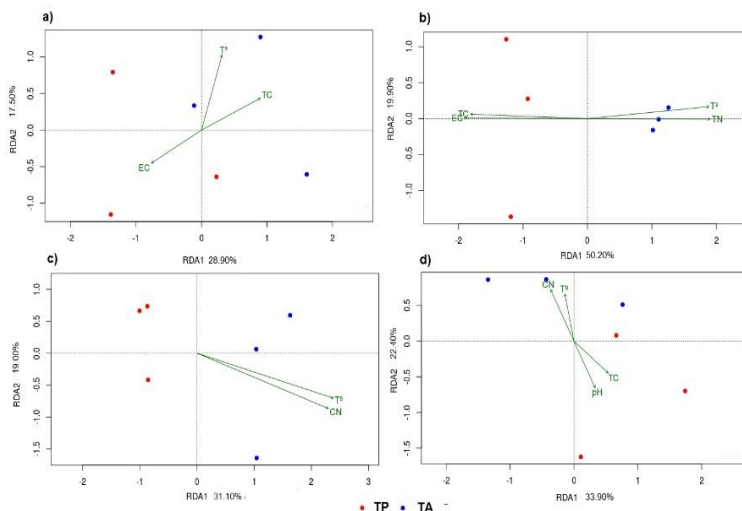
1. Zhong X-Z, Li X-X, Zeng Y, Wang S-P, Sun Z-Y, Tang Y-Q. Dynamic change of bacterial community during dairy manure composting process revealed by high-throughput sequencing and advanced bioinformatics tools. *Bioresour Technol.* 2020;306:123091.
2. Meng Q, Yang W, Men M, Bello A, Xu X, Xu B, et al. Microbial community succession and response to environmental variables during cow manure and corn straw composting. *Front Microbiol.* 2019;10:529.
3. Hernández-Lara A, Ros M, Pérez-Murcia MD, Bustamante MÁ, Moral R, Andreu-Rodríguez FJ, et al. The influence of feedstocks and additives in 23 added-value composts as a growing media component on *Pythium irregulare* suppressivity. *Waste Manag.* 2021;120:351–63.
4. Morales AB, Bustamante MA, Marhuenda-Egea FC, Moral R, Ros M, Pascual JA. Agri-food sludge management using different co-composting strategies: study of the added value of the composts obtained. *J Clean Prod.* 2016;121:186–97.
5. Steger K, Jarvis Å, Vasara T, Romantschuk M, Sundh I. Effects of differing temperature management on development of Actinobacteria populations during composting. *Res Microbiol.* 2007;158(7):617–24.
6. Scotti R, Mitchell AL, Pane C, Finn RD, Zaccardelli M. Microbiota Characterization of Agricultural Green Waste-Based Suppressive Composts Using Omics and Classic Approaches. *Agriculture.* 2020;10(3):61.
7. Jiang C, Wu Y, Cheng Y. Bacterial and fungal communities and contribution of physicochemical factors during cattle farm waste composting. *Microbiologyopen.* 2017;6(6):e00518.



**Figura 1.** Abundancia relativa a nivel de filo (>1%) a) bacterias b) hongos. TP\_I, TA\_I: fase inicial; TP\_T, TA\_T: fase termófila; TP\_B, T\_B: fase biooxidativa; TA\_M, TP\_M: fase maduración. TP: pila con tomate y puerro. TA: pila con tomate y alpeoruju.



**Figura 2.** Análisis de redundancia multivariable (RDA) de la comunidad de bacterias. Las flechas son los parámetros químicos. A) inicial, b) termófila, c) biooxidativa y d) maduración.



**Figura 3.** Análisis de redundancia multivariable (RDA) de la comunidad de hongos. Las flechas son los parámetros químicos. A) inicial, b) termófila, c) biooxidativa y d) maduración.