

## USO DE UN INÓCULO ENDÓGENO PARA ACELERAR LA DEGRADACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN UNA GRANJA PORCINA POR MEDIO DEL PROCESO DE COMPOSTAJE

Using an endogenous inoculum to accelerate organic matter degradation by composting in a pig farm

Alejandro VARGAS SÁNCHEZ<sup>1</sup>, María Elena TRUJILLO ORTEGA<sup>1</sup>,  
Laura Bertha REYES SÁNCHEZ<sup>2</sup> y Susana Elisa MENDOZA ELVIRA<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, 04510 Ciudad de México, México.

<sup>2</sup> Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. 1 de Mayo s/n, 54720 Cuautitlán Izcalli. Estado de México, México.

\*Autora para correspondencia; [seme@unam.mx](mailto:seme@unam.mx)

(Recibido: septiembre 2018; aceptado: noviembre 2019)

Palabras clave: biopilas, cadáveres de cerdo, residuos orgánicos, inóculo microbiano.

### RESUMEN

Las unidades de producción porcinas en México generan residuos orgánicos que hasta el momento no se han tratado adecuadamente, o bien los métodos existentes afectan el ambiente de manera directa o indirecta. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del uso de un inóculo bacteriano sobre la descomposición de ciertos residuos orgánicos sometidos al proceso de compostaje. Se emplearon residuos sólidos extraídos de la fosa recolectora de aguas residuales de una granja porcina y se mezclaron con aserrín para formar una matriz de degradación donde se colocaron cadáveres de cerdo. Este ecosistema fomentó el desarrollo y posterior aislamiento de especies microbianas que se usaron para elaborar un inóculo endógeno bacteriano mantenido en un medio mínimo basal, constituido por extracto de compost en una solución mineral. El inóculo endógeno elaborado se adicionó a tres matrices de 150 kg cada una, y se construyeron otras tres matrices de referencia —todas las cuales contenían cadáveres de cerdo— que sólo recibieron agua peptonada al 0.1 %. Después de un periodo de compostaje de 98 días y tras un análisis bromatológico, microbiológico y un bioensayo, se observó que el inóculo aceleró la descomposición de los cadáveres de cerdo. También se redujo el tiempo necesario para disminuir la carga microbiana patógena. Adicionalmente, el índice de germinación de las semillas de rábano mejoró en las matrices inoculadas, mientras que el contenido de nitrógeno aumentó con el tiempo.

Key words: biopiles, pig mortality, organic residues, microbial inoculum.

### ABSTRACT

In Mexico, pork farms generate organic residues which often are not appropriately treated before being discharged to waste waters or are treated by methods that directly or indirectly damage the environment. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of a bacterial inoculum on the degradation of organic residues under composting conditions. Solid residues from the effluent sump in a pig farm were mixed

with sawdust to form a degradation matrix, where pig carcasses were composted. This artificial ecosystem was used to promote the growth and eventual isolation of various microbial species, which were then used to produce a bacterial endogenous inoculum that was maintained in a minimum basal medium based on compost extract in a mineral solution. The inoculum was added to three 150-kg degradation matrices. Three reference matrices, prepared from pig carcasses as described above, were added with 0.1 % peptone solution only. After 98 days of composting, microbiological and bromatological analysis, as well as a bioassay, showed that the inoculum accelerated the decomposition of pig carcasses. Furthermore, the time required to decrease the pathogenic microbial load was reduced in inoculated matrices and the germination index of *Raphanus sativus* seeds improved, while nitrogen content increased continuously.

## INTRODUCCIÓN

En México, las unidades porcinas de producción generan residuos sólidos orgánicos como excretas, animales muertos, placentas y alimento desperdiciado. Debido a que éstos contienen agentes patógenos, se deben considerar según la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 (SSA 2002) como residuos peligrosos, biológico-infecciosos, por lo que se deben manejar apropiadamente (Christensen et al. 2002, Meeker y Meisinger 2015, Medina et al. 2018). Generalmente, en las unidades de producción se establece una zona para que las heces, placentas y animales muertos se depositen formando pilas de hasta 1.5 m de altura y de ancho indeterminado, sin manejo alguno (Vargas et al. 2012, Meeker y Meisinger 2015), por lo que esta materia orgánica se descompone natural y lentamente sin emitir calor al medio (Gandolfi et al. 2010, Alberts et al. 2015). En ese ambiente anaeróbico se emiten gases de efecto invernadero como el metano y el óxido nitroso ( $N_2O$ ) que se acumulan en la atmósfera (Gandolfi et al. 2010, Gerba y Pepper 2014, Medina et al. 2018, Roy et al. 2018), contribuyendo al calentamiento global antrópico. Además, los olores desprendidos generan malestar para la sociedad (Elving et al., 2010) y atraen a organismos detritívoros (roedores y artrópodos), lo que produce un aumento de sus poblaciones (Sadava et al., 2013) y con ello incrementan la transmisión de enfermedades a los animales (Vargas et al. 2012) y al hombre.

Algunos autores como Xu et al. (2010), Eamens et al. (2011) y Vargas et al. (2012) consideran al proceso de compostaje (PC) como una biotecnología que aventaja al enterramiento y la incineración debido a que el primer método contamina las aguas subterráneas y los agentes patógenos encontrados en los cadáveres no son inactivados, mientras que el último requiere que el equipo de cremación se encuentre en condiciones óptimas para evitar la

emisión excesiva de gases de efecto invernadero a la atmósfera (Wilkinson 2007, Bonhotal et al. 2014). Sin embargo, en México, el PC aún no se emplea rutinariamente para disponer de la mortalidad de cerdos generada por causas naturales o por brotes infecciosos, ya que los únicos métodos aprobados por las autoridades federales son el enterramiento y la incineración, como se mencionó anteriormente. Ambos son recomendados por las normas NOM-007-ZOO-1994 (SAGAR 1994) y NOM-037-ZOO-1995 (SAGAR 1995). También la SAGARPA (2011) los recomienda para disponer de las mortalidades de aves derivadas del sacrificio masivo durante la activación del Plan de Emergencia Sanitaria. Sin embargo, el enterramiento y la incineración son procesos terminales por lo que no generan algún producto aprovechable. Así que, para reciclar los bioelementos encontrados en los cadáveres y residuos orgánicos, y fomentar su ingreso dentro de un proceso circular, estos residuos deben mantenerse dentro de la unidad de producción mientras reciben un tratamiento con la intención de generar subproductos como fertilizantes que no afecten la salud del hombre, los animales y el ambiente donde son dispuestos (Wilkinson 2007, Vargas et al. 2012, Sadava et al. 2013, Gerba y Pepper 2014).

En relación con el tiempo necesario para degradar excreta de bovinos de carne y leche, Komar et al. (2012) y Medina et al. (2018) obtuvieron compost estable y maduro después de 24 semanas de iniciado el PC). Sin embargo, el tiempo requerido para la degradación de las carcasas de cerdo es un aspecto que no ha sido investigado lo suficiente. Epstein (2011) considera esencial el tiempo necesario para generar compost estabilizado, ya que algunos aspectos de logística y finanzas se verían afectados directamente. Así que para mejorar la degradación de cadáveres y residuos orgánicos de origen pecuario en México se pueden emplear estrategias que incrementen el efecto degradante (Huerta-Pujol et al. 2010, Román et al. 2013) o acorten el tiempo del PC (Fernández et al.

2006, Epstein 2011, Martínez 2015). Un método empleado durante la remediación de sitios contaminados con hidrocarburos es el uso de inóculos (Zucchi et al. 2003, Fernández et al. 2006, Gandolfi et al. 2010), el cual se basa en aumentar, en condiciones controladas, la población microbiana encontrada en una muestra. De este modo, para obtener un inóculo endógeno, se requiere: *i*) aislar un consorcio microbiano en condiciones de laboratorio (Zucchi et al. 2003); *ii*) demostrar que dicho inóculo tiene capacidad para degradar un sustrato específico (Medina et al. 2018), y *iii*) liberarlo en el ambiente donde se encuentra el sustrato blanco para promover la degradación (Martínez 2015, Roy et al. 2018).

A nivel nacional, algunas empresas ofrecen productos basados en enzimas comerciales, pero los usuarios no reciben capacitación o carecen de información técnica sobre los subprocesos microbiológicos que conforman el PC, de manera que no pueden determinar el momento en que el proceso de descomposición ha terminado o el momento en que el producto finalizado (compost) alcanza la madurez. Por estas razones, los objetivos del presente estudio fueron evaluar el efecto del uso de un inóculo endógeno sobre: *i*) la inactivación de microorganismos patógenos encontrados en la materia prima empleada; *ii*) el cambio del contenido de nitrógeno total y carbono orgánico total durante el proceso de descomposición, y *iii*) la calidad del compost generado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Elaboración de la biopila fuente

Se emplearon sólidos crudos (o biosólidos) provenientes del proceso de filtración de las aguas residuales encontradas en el cárcamo de una granja productora de cerdos de 160 vientres, de ciclo completo (99° 31' 45" O, 19° 57' 13" N, 2250 msnm), ubicada en el municipio de Jilotepec, Estado de México. Los biosólidos se combinaron con aserrín pasado por una criba metálica con perforaciones de 0.5 cm, adquirido en una maderería local. Ambos ingredientes fueron mezclados manualmente por separado y por espacio de 5 min, hasta formar un cono invertido de base circular. Posteriormente se tomaron tres submuestras de 50 g de diferentes zonas del cono, las cuales se mezclaron para formar una muestra compuesta de 150 g. Los análisis desarrollados fueron: 1) pH con la técnica descrita por Fernández et al. (2006); 2) humedad con la técnica descrita por Huerta-Pujol et al. (2010), exponiendo las muestras ( $n = 3$ ) de 30 g a 70 °C por 24 h; 3) cenizas, para lo cual se incineraron

tres muestras de 5 g (materia seca) a 520 °C (Muffle Furnace, Blue M, EUA) por 4 h como indica la SEDEMA (2011); 4) carbono orgánico total (COT) con la técnica de calcinación descrita por Huerta-Pujol et al. (2010); 5) nitrógeno total (NT) con el método Kjeldahl indicado por la SEDEMA (2011). Con los resultados obtenidos, se mezclaron los biosólidos con aserrín para elaborar una biopila fuente de 150 kg que presentó una relación carbono/nitrógeno inicial de 25/1 y humedad del 60 % (higrómetro, TFA, Alemania) con la intención de establecer un hábitat con capacidad de autocalentamiento.

Para acondicionar el consorcio microbiano a la descomposición de los tejidos de cerdo, se colocaron a lo largo del eje de simetría vertical de la biopila fuente la cabeza (cortada por la mitad), el aparato respiratorio (faringe, laringe, tráquea, bronquios y pulmones) y el corazón de un cerdo de 100 kg. Después, cada 3 h se midieron tanto la temperatura del interior de la biopila fuente (TFA, Alemania) como la temperatura ambiental. Una vez alcanzada la temperatura recomendada por Wilkinson (2007) para inactivar agentes patógenos (55 °C), se tomaron tres submuestras (a los 30, 60 y 90 cm de la base del eje de simetría vertical de la biopila fuente) de 100 g, las cuales se mezclaron para formar una muestra compuesta de 300 g que se transportó dentro de una bolsa Ziploc® que se colocó dentro de un termo de plástico a 5 °C (Esquivel 2012). El procesamiento de la muestra se realizó 6 h después de haber sido tomada.

### Preparación del inóculo endógeno

El inóculo endógeno se preparó a base de un extracto de compost. Para la obtención de este extracto, se siguió el procedimiento descrito por Sasaki et al. (2005), que consistió en adicionar 1 g de compost (muestra compuesta extraída de la biopila fuente) en 10 mL de una solución de NaCl al 0.85 %, seguida de la homogenización por 10 min a 150 rpm, a temperatura ambiente.

Posteriormente, se filtró y colectó la fase líquida que se centrifugó a  $1000 \times g$  por 10 min (RC5 Superspeed Refrigerated Centrifuge, Sorvall, EUA). Se midió el pH en el extracto obtenido y se empleó como referencia para ajustar el pH de otras soluciones empleadas en el presente experimento. Finalmente, el extracto fue esterilizado a 121 °C por 30 min.

Para investigar el efecto de la inclusión del extracto de compost como parte del medio mínimo basal (MMB), se realizó un experimento en el que se compararon las unidades formadoras de colonias (UFC) empleando medios de cultivo clásicos.

### **Esterilización a 121 °C por 30 min**

Para investigar el efecto de la inclusión del extracto de compost como parte del medio mínimo basal (MMB), se realizó un experimento en el que se compararon las unidades formadoras de colonias (UFC) empleando medios de cultivo clásicos. De cada submuestra obtenida de la biopila fuente, se hicieron diluciones seriadas desde  $10^{-2}$  hasta  $10^{-8}$ , y se sembraron cajas de Petri ( $n = 5$ ) que contenían agar leche (AL) 100 % (**Anexo I**), agar carboximetilcelulosa (ACMC) 100 % (**Anexo II**) y agar extracto de compost (AEC) 100 %, así como combinaciones AL/AEC (50/50 %) y ACMC/AEC (50/50 %). Como medio de referencia, se empleó agar triptsoya (ATS) 100 %. Todos se esterilizaron ( $121\text{ °C} \times 15\text{ min}$ ) y posteriormente recibieron 50 mg/L de nistatina  $\gamma$ -irradiada (Sigma Aldrich, EUA). Los agares fueron sembrados en la superficie con la ayuda de un diseminador de vidrio Drigalsky. La incubación se realizó a  $37\text{ °C}$  por 24 h en ambiente aeróbico (Dry Type Microbiological Incubator, Blue M, EUA). Solamente fueron enumeradas las cajas con un número de colonias entre 30 y 300.

Las soluciones y medios complementarios elaborados fueron: 1) solución mineral:  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1 g,  $\text{CaCl}_2$  0.5 g y agua destilada 1000 mL; 2) extracto carne de cerdo/aserrín: carne molida de cerdo 100 g, aserrín 10 g y agua destilada 200 mL. Para preparar MMB, se mezclaron en un matraz Erlenmeyer de 500 mL: 100 mL de extracto de compost, 100 mL de solución mineral y 50 mL de extracto carne de cerdo/aserrín, todos estériles y adicionados con 50 mg/L de nistatina  $\gamma$ -irradiada. Al MMB, se le adicionaron 10 g de compost y la suspensión se colocó a  $55\text{ °C}$  y 175 rpm por 5 días. Pasado ese tiempo, se transfirió 1 mL de la suspensión a MMB nuevo y estéril. Este procedimiento se realizó por quintuplicado. La suspensión microbiana obtenida fue considerada como el inóculo endógeno bacteriano (IEB). Para el aislamiento e identificación de las bacterias encontradas, se empleó MMB adicionado con agar (15 g/L). Para revelar la identidad de los microorganismos, se emplearon las siguientes pruebas: reacción de Gram, morfología microscópica, viabilidad después de exposición a  $80\text{ °C}$  por 10 min, tinción de esporas, oxidasa, catalasa, prueba O/F y motilidad (Álvarez y Mendoza 2005).

### **Compostaje en biorreactores**

Se construyó una biopila de 300 kg con la misma relación carbono/nitrógeno y humedad que la biopila fuente. Después de formada, se dividió en dos partes iguales de 150 kg cada una. Una parte recibió 5 L de

IEB a  $55\text{ °C}$ , mientras que la otra recibió 5 L de agua peptonada al 0.1 % preparada según el procedimiento indicado por la SSA (1994) y calentada a  $55\text{ °C}$ . Entonces, cada parte o matriz fue introducida en un biorreactor (contenedor de plástico de 90 cm de altura  $\times$  57 cm de diámetro) con capacidad de 200 L junto con la mitad de un cadáver de cerdo de 15 kg, sin la cabeza. Cada 3 días se midieron tanto la temperatura interna ( $^{\circ}\text{C}$ ) a lo largo del eje de simetría vertical como la temperatura ambiental. Después de realizar los muestreos, las matrices fueron extraídas, los residuos de cerdo fueron recolectados asépticamente y se pesaron con una báscula analítica (SC4010, Ohaus, EUA). Las matrices fueron mezcladas manualmente por 5 min y se adicionó el agua estéril necesaria para mantener la humedad en 60 %. Para volver a llenar un biorreactor, se colocó en el fondo una capa de matriz de 15 cm de altura, encima se acomodaron parte de los residuos de cerdo, éstos fueron cubiertos por otra capa de 15 cm de matriz y así hasta llenar los contenedores. De este procedimiento se realizaron tres repeticiones.

### **Muestreos**

Las matrices que recibieron el IEB y las de referencia se muestrearon a los 0, 14, 28, 42, 56, 70, 84 y 98 días de introducidas en los biorreactores. Las zonas críticas de muestreo se ubicaron a 25, 50 y 75 cm de la base superior de cada contenedor. Para tomar asépticamente una submuestra de 40 g, se retiró aproximadamente 1 kg de matriz de cada una de las zonas críticas de muestreo ubicadas a 25, 50 y 75 cm de la base de cada contenedor. Las submuestras se colocaron dentro de una bolsa Ziploc® estéril y ésta a su vez dentro de un termo con hielo. Las tres submuestras se mezclaron para formar una muestra compuesta de 120 g. Una vez tomadas las muestras para los análisis microbiológicos, se le volvió a dar forma de cono a la matriz (sin los residuos de cerdo) y se empleó la técnica de cuarteo descrita por Ryckboer et al. (2003) para obtener una muestra de 500 g que se colocó dentro de una bolsa Ziploc® y ésta a su vez dentro de un termo con hielo.

### **Características físicas y químicas de las muestras**

Las muestras de ambas matrices se sometieron a los siguientes análisis: 1) COT: la muestra de 50 g se desecó a  $63\text{ °C}$  por 2 h y posteriormente se emplearon 20-30 mg que se introdujeron en un analizador de carbono orgánico (TOC5050A, Shimadzu, Japón); 2) NT: se analizó una muestra de 100 mg empleando el método Dumas (FLASH 2000, Elemental Analyzer, Thermo Scientific, Italia).



### Análisis microbiológico y de fitotoxicidad

Para determinar la cantidad de microorganismos heterótrofos totales y de la bacteria *Escherichia coli* presentes en ambas matrices, se emplearon agar MMB y agar Fluorocult *E. coli* O157:H7 (Merck, Alemania), respectivamente. Se realizaron diluciones seriadas (desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-9}$ ), empleando agua peptonada al 0.1 %. Los medios fueron sembrados en la superficie con la ayuda de un diseminador Drigalsky. La incubación de microorganismos heterótrofos totales termófilos y *Escherichia coli* se realizó a 55 y 37 °C, respectivamente, por 24 h en ambiente aeróbico (Dry Type Microbiological Incubator, Blue M, EUA). Solamente se enumeraron las cajas con 30 a 300 colonias.

Para obtener el índice de germinación indicado por la SEDEMA (2011) se realizó un experimento en el que se emplearon semillas de rábano (*Raphanus sativus*) y las fórmulas siguientes:

$$\text{Porcentaje de germinación relativo (PGR)} = \frac{\text{No.semillas germinadas en extracto}}{\text{(No.semillas germinadas en testigo)}} \times 100$$

$$\text{Elongación radicular relativo (ERR)} = \frac{\text{Elongación de radículas en extracto}}{\text{(Elongación de radículas en testigo)}} \times 100$$

$$\text{Índice de germinación (IG)} = \frac{\text{PGR} \times \text{ERR}}{100}$$

### Análisis estadístico

De las características fisicoquímicas de la materia prima con que se elaboró la biopila fuente se reportaron la media y la desviación estándar. Para el experimento con diferentes medios de cultivo, las variables de respuesta fueron las UFC/g (materia seca). Se empleó el análisis de varianza con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ , y posteriormente se usó la prueba de comparación de medias de Tukey. Para obtener la tasa de degradación de las carcasas de cerdo, se realizaron los cálculos indicados por Zimmer (2008). Para comparar las medias (características químicas, análisis microbiológicos e índice de germinación) de las matrices, se usó la prueba *t* de Student con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ . Las UFC fueron transformadas a unidades  $\text{LOG}_{10}$ . El programa estadístico empleado fue RCTR (2017).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los análisis fisicoquímicos de los biosólidos y aserrín se muestran en el **cuadro I**. El contenido de carbono y nitrógeno encontrado en esta materia prima fue similar al obtenido por Christensen et al. (2002), Amir et al. (2008), Nolan et al. (2011), Komar et al. (2012) y Bonhot et al. (2014), por lo que se considera que las unidades de producción porcina mexicanas pueden utilizar estos residuos para realizar una matriz de degradación en la que pueden colocar todos los residuos orgánicos generados. Entre las ventajas del aserrín se encuentran su costo reducido (Bonhot et al. 2014), su fácil manejo (Epstein 2011) y en general que es una mejor materia prima en comparación con las pajas y rastrojos (Huerta-Pujol et al. 2010, Komar et al. 2012) y residuos de jardinería (Ryckboer et al. 2003, Nolan et al. 2011).

**CUADRO I.** CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA MATERIA PRIMA EMPLEADA.

Características	Aserrín	Biosólidos
pH	6.04 (0.095)	5.44 (0.016)
Humedad (%)	9.18 (1.133)	26.31 (3.187)
Materia seca (%)	90.82 (1.113)	73.69 (3.134)
Cenizas (%)	0.91 (0.113)	32.40 (0.136)
Sólidos volátiles (%)	99.08 (0.113)	67.60 (0.136)
Carbono orgánico total (%)	55.05 (0.345)	37.53 (2.250)
Nitrógeno total (%)	0.09 (0.000)	2.57 (0.967)
Relación carbono/nitrógeno	611.66	14.60

Nota: los valores mostrados son la media de tres observaciones (con base a materia seca). La desviación estándar se indica dentro del paréntesis.

Al construir la biopila fuente se formó un hábitat adecuado para el desarrollo de microorganismos degradadores que, al aislarse y realizar las pruebas bioquímicas indicadas, se identificaron como *Bacillus* spp., un microorganismo comúnmente aislado de biopilas de materiales compostados. Sasaki et al. (2005) identificaron (entre otras especies) al *Bacillus*, que fue aislado de matrices hechas con excremento de bovino, y determinaron que tuvo la función de ser un activo asimilador de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ). Posteriormente, Vargas et al. (2007) emplearon cepas de *Bacillus*, *Streptomyces* y *Ureibacillus* para degradar moléculas de lignocelulosa y concluyeron que el PC puede acelerarse si se emplean los microorganismos adecuados.

La adición de extracto de compost a los diferentes medios de cultivo empleados mejoró el cultivo y la formación de UFC ( $p < 0.05$ ) (**Cuadros II y III**). Sasaki et al. (2005), Martínez (2015) y Roy et al. (2018) concluyeron que el criterio para elaborar un inóculo endógeno es completamente diferente al utilizado en el empleo de cultivos microbianos (cepas purificadas), que posteriormente son combinados y añadidos a un ambiente específico. El desarrollo de cultivos ambientales mixtos se basa en la selección forzada de determinados factores físicos, químicos o abióticos que se establecen dentro del biorreactor en que se cultivan los microorganismos, por lo que dichos factores deben ser similares a los encontrados en el ambiente en que se encuentra el sustrato blanco (Martínez 2015). Roy et al (2018) indican que por esa razón la gran mayoría de los cultivos microbianos puros liberados al ambiente son rápidamente inactivados, por lo que no ejercen el efecto de descomposición esperado. También, Medina et al. (2018) indican que el uso de inóculos en los cuales se aumenta la densidad microbiana es un tema controversial debido a los resultados contrastantes encontrados en diversas investigaciones.

Por estas razones es necesario conocer con precisión los factores abióticos claves en el desarrollo de un microorganismo, con el fin de preparar medios de cultivo lo más similares posibles al ambiente original y de esta forma evitar que los microorganismos sufran estrés durante el aislamiento y éste se dificulte. Por ejemplo, Zucchi et al. (2003) emplearon extracto de suelo estéril y un agente surfactante para incrementar el número de bacterias “viables, pero no cultivables” de muestras de suelo contaminado con hidrocarburos. La adición de dichos ingredientes afectó positivamente sus resultados, de tal manera que el uso y combinación de ingredientes sintéticos y extractos naturales tuvo un efecto sinérgico viable y benéfico. Zhu et al. (2004), Amir et al. (2008), Epstein (2011) y Bonhotal et al. (2014) refieren la diferencia estadística encontrada entre las diferentes zonas críticas de muestreo, y coinciden en que ésta se debe al establecimiento natural de zonas o gradientes a lo largo del eje de simetría longitudinal de una biopila. Los resultados encontrados en esta investigación muestran que dentro de los biorreactores empleados también se formaron dichos gradientes. Xu et al. (2010) explican que la zona con mayor contenido

**CUADRO II.** CRECIMIENTO BACTERIANO (EN UFC/g DE COMPOST) EN MEDIOS DE CULTIVO A BASE DE CELULOSA.

ZCM	ATS	AEC	ACMC	ACMC/EC
Superior	$2.3 \times 10^8 aY$	$4.5 \times 10^8 bY$	$1.6 \times 10^8 aZ$	$2.8 \times 10^8 bY$
Central	$2.2 \times 10^7 aX$	$8.4 \times 10^8 cZ$	$9.5 \times 10^7 aY$	$3.2 \times 10^8 bY$
Profunda	$1.8 \times 10^7 bX$	$2.9 \times 10^6 aX$	$2.5 \times 10^6 aX$	$5.1 \times 10^7 cX$

ZCM: zona crítica de muestreo, ATS: agar triptosoya 100 % (medio de referencia), AEC: agar extracto de compost 100 %, ACMC: agar carboximetilcelulosa 100 %, ACMC/EC: agar carboximetilcelulosa 50 %/extracto de compost 50 %. Dentro de una fila, los valores seguidos de letras distintas (*a*, *b*, y *c*) son diferentes ( $p < 0.05$ ). Dentro de una columna, los valores seguidos de letras distintas (*X*, *Y*, y *Z*) son diferentes ( $p < 0.05$ ).

**CUADRO III.** CRECIMIENTO BACTERIANO (EN UFC/g DE COMPOST) EN MEDIOS DE CULTIVO A BASE DE LECHE.

ZCM	ATS	AEC	AL	AL / EC
Superior	$2.3 \times 10^8 aY$	$4.5 \times 10^8 bY$	$1.4 \times 10^7 aY$	$1.2 \times 10^9 cZ$
Central	$2.2 \times 10^7 aX$	$8.4 \times 10^8 cZ$	$2.2 \times 10^6 aX$	$8.1 \times 10^7 bY$
Profunda	$1.8 \times 10^7 bX$	$2.9 \times 10^6 aX$	$1.0 \times 10^6 aX$	$1.5 \times 10^7 bX$

ZCM: zona crítica de muestreo, ATS: agar triptosoya 100 % (medio de referencia), AEC: agar extracto de compost 100 %, AL: agar leche 100 %, AL/EC: agar leche 50 %/extracto de compost 50 %. Dentro de una fila, los valores seguidos de letras distintas (*a*, *b*, y *c*) son diferentes ( $p < 0.05$ ). Dentro de una columna, los valores seguidos de letras distintas (*X*, *Y*, y *Z*) son diferentes ( $p < 0.05$ ).

de humedad y a su vez menor actividad aeróbica fue la más cercana al piso de las biopilas formadas en su investigación, debido a que la humedad excesiva impide la difusión adecuada del aire, donde reside el oxígeno requerido por el proceso de respiración celular.

En relación con la descomposición y a su vez pérdida de masa de los tejidos de cerdo compostados, la tasa de degradación diaria calculada en las matrices inoculadas, a los 14 días del inicio del experimento, fue de  $2.04 \pm 0.209$  % en comparación con  $1.69 \pm 0.056$  % obtenida en las matrices que no recibieron inóculo. Posteriormente, a los 98 días del PC, los resultados fueron:  $0.84 \pm 0.05$  % vs.  $0.77 \pm 0.13$  %, respectivamente. Los tejidos de cerdo fueron inicialmente degradados de mejor manera ( $p < 0.05$ ) debido a que el IEB añadido generó a su vez un incremento de enzimas específicas que degradaron la misma cantidad de sustrato (tejidos animales) que el encontrado en las matrices de referencia. Eamens et al. (2011), en ensayos con bovinos muertos de 350 kg enterrados sin seccionar, obtuvieron una degradación menor a la lograda por el compostaje de otros cadáveres de bovinos de peso similar. También observaron que la temperatura del sitio donde enterraron a los animales nunca superó los 30 °C, por lo que consideraron que la respiración celular no fue la ruta metabólica que emplean los microorganismos degradadores. En contraste, la tasa de degradación de los residuos de cerdo encontrada en ambas matrices en el presente experimento, durante la etapa temprana del PC, fue alta según la clasificación de Zimmer (2008), debido principalmente al tipo de metabolismo microbiano prevalente. Bonhotal et al. (2014) explican que la relación carbono/nitrógeno reducida de una matriz incentiva el aprovechamiento debido a los consorcios bacterianos existentes de las biomoléculas derivadas de los residuos orgánicos. Del mismo modo, las

condiciones del estudio favorecieron el desarrollo y aislamiento de bacterias, no así de hongos. En la naturaleza, esto es, sin la adición casual o intencional de fuentes de nitrógeno (p. ej., excreta o animales muertos), la biomasa microbiana bacteriana crece en forma lenta (Epstein 2011, Sadava et al. 2014) debido a que el nitrógeno se encuentra disponible en cantidades reducidas.

El uso del IEB incrementó las UFC de los microorganismos descomponedores o heterótrofos, de tal manera que la densidad máxima se alcanzó a los 28 días del PC. Posteriormente, los conteos fueron reduciéndose gradualmente (**Cuadro IV**). Este resultado puede deberse a la reducción del contenido de materia orgánica (compuesta de carbono), lo que provocó una ralentización del crecimiento bacteriano. Ryckeboer et al. (2003) también observaron una reducción en los conteos de organismos descomponedores con el paso del tiempo, cuando compostaron residuos de jardinería dentro de contenedores de plástico similares en tamaño a los empleados en la presente investigación, e indicaron que el motivo principal de dicho resultado fue la reducción del contenido de materia orgánica.

Al comenzar el experimento, las UFC encontradas en ambas matrices indicaron la presencia abundante de la bacteria *Escherichia coli*, caracterizada por la fluorescencia de las colonias al exponer el medio de cultivo a luz ultravioleta (**Cuadro IV**). Posteriormente, los conteos fueron reduciéndose a partir de los 28 días del experimento en las matrices que recibieron el IEB, por lo que la población bacteriana se redujo ( $p < 0.05$ ).

Wilkinson (2007), Amir et al. (2008), Epstein (2011) y Bonhotal et al. (2014) indican que la temperatura es el factor abiótico que afecta de mayor manera la sobrevivencia de los microorganismos patógenos encontrados en la materia prima com-

**CUADRO IV.** CONTEOS MICROBIANOS ( $\log_{10}$ ) DURANTE EL PROCESO.

Tipo de microorganismos	Tipo de matriz	Días en compostaje							
		0	14	28	42	56	70	84	98
Heterótrofos totales termófilos	Sin inocular	3.50	5.49 <sup>a</sup>	6.75 <sup>a</sup>	6.70 <sup>a</sup>	6.89	6.77	6.82	4.73
	Inoculada	3.50	8.68 <sup>b</sup>	9.86 <sup>b</sup>	8.63 <sup>b</sup>	7.09	7.22	6.89	4.86
<i>Escherichia coli</i> *	Sin inocular	8.52	4.12	4.12 <sup>B</sup>	2.9 <sup>B</sup>	2.43 <sup>B</sup>	2.17 <sup>B</sup>	1.92 <sup>B</sup>	1.66 <sup>B</sup>
	Inoculada	8.52	4.27	2.41 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>

\*Sólo se empleó agar Flurocult *E.coli* O157:H7.

<sup>a,b</sup>Medias por columna (heterótrofos totales) con diferente literal, indican diferencia ( $p < 0.05$ ); <sup>A,B</sup>medias por columna (*Escherichia coli*) con diferente literal, indican diferencia ( $p < 0.01$ ). Se realizaron tres repeticiones por tratamiento.

postada. Debido a que dentro de ambas matrices la temperatura superó los 55 °C desde los primeros momentos del PC, se debe considerar que el consumo y agotamiento de los tejidos de cerdo compostados fue la razón principal de la disminución con el paso del tiempo de la cantidad de UFC en las matrices inoculadas. Eamens et al. (2011) observaron que la temperatura reducida no tiene la capacidad de inactivar a la bacteria *Escherichia coli* presente en la mortalidad de bovinos enterrados. De hecho, Elving et al. (2010) mencionan la posibilidad alta de recolonización por coliformes en biopilas cuando la temperatura interna es de intensidad reducida. En la presente investigación, los conteos bacterianos no volvieron a incrementarse con el paso del tiempo; al contrario, la reducción de las UFC en ambos tratamientos fue gradual hasta obtener, en diferentes momentos, el grado de inocuidad recomendado por la SEDEMA (2011).

En relación con el nivel de COT, éste se incrementó en las matrices inoculadas ( $p < 0.05$ ) a los 42 días de iniciado el experimento (**Cuadro V**). Posteriormente se redujo de manera gradual hasta uniformarse con el nivel de COT encontrado en las matrices de referencia. Este resultado puede explicarse por medio de dos aspectos principales. Si los residuos de cerdo fueron degradados con mayor eficiencia debido al uso del IEB, se puede asumir que fue liberada mayor cantidad de biomoléculas (polipéptidos, oligopéptidos, aminoácidos, ácidos nucleicos, ácidos grasos, glucógeno, etc.) hacia la matriz de degradación, por lo que estuvieron disponibles para la biomasa microbiana aumentada. Además, debido a que la biomasa microbiana del IEB también está conformada por materia orgánica, ésta pudo ser

la causa principal del aumento en el nivel del COT. Las moléculas reducidas que contienen carbono (las cuales constituyeron la materia prima compostada) fueron oxidadas adecuadamente, por lo que se produjo suficiente dióxido de carbono; esto provocó que los niveles finales de COT fueran similares entre tratamientos. Martínez (2015) indica que los inóculos elaborados adecuadamente aprovechan de mejor manera los sustratos específicos cuando éstos son liberados en ambientes contaminados o donde se encuentra el sustrato blanco.

Para el caso del NT, las matrices inoculadas presentaron mayor contenido ( $p < 0.05$ ) de NT con el paso del tiempo que las matrices de referencia. Sin embargo, ambos tratamientos presentaron niveles ascendentes y continuos (**Cuadro V**), lo que contradice los resultados reportados por Christensen et al. (2002), Eamens et al. (2011), Epstein (2011), Komar et al. (2012) y Román et al. (2013). Este resultado se explica por la relación carbono/nitrógeno inicial (Epstein 2011, Román et al. 2013) de las matrices elaboradas, así como al control de los niveles de humedad (Komar et al. 2012) y aireación (Zhu et al. 2004) a lo largo del PC. Todos los factores anteriores evitaron la formación de ambientes anaeróbicos dentro de los biorreactores que fomentaran el desarrollo de microorganismos con capacidad para desnitrificar a los nitratos y nitritos formados, lo que conllevaría a la emisión de  $N_2O$  y gas dinitrógeno (Bonhot et al. 2014, Gerba y Pepper 2014). A juicio de Huerta-Pujol et al. (2010), esta volatilización de moléculas nitrogenadas generaría una reducción de la calidad agronómica del compost al final del experimento. Durante el presente estudio, las matrices que recibieron el IEB presentaron mayor nivel de NT ( $p < 0.05$ )

**CUADRO V.** CONTENIDO DE CARBONO ORGÁNICO Y NITRÓGENO TOTALES DURANTE EL PROCESO.

Análisis	Tipo de matriz	Días de compostaje				
		0	14	42	70	98
COT (%)	Sin inocular	42.90	41.86	42.72 <sup>a</sup>	40.05	40.81
	Inoculada	42.90	43.57	49.93 <sup>b</sup>	42.23	40.75
NT (%)	Sin inocular	1.38	1.45 <sup>a</sup>	1.51 <sup>a</sup>	1.56 <sup>a</sup>	1.68 <sup>a</sup>
	Inoculada	1.38	1.54 <sup>b</sup>	1.68 <sup>b</sup>	1.69 <sup>b</sup>	1.76 <sup>b</sup>
Relación C/N	Sin inocular	31.2	28.8	28.3	25.7	24.2
	Inoculada	31.2	28.2	29.8	25.0	23.2

COT: carbono orgánico total, NT: nitrógeno total, relación C/N: partes de carbono divididas entre partes de nitrógeno.

<sup>a,b</sup>Medias por columna con diferente literal, indican diferencia ( $p < 0.05$ ).



**CUADRO VI.** ÍNDICE DE GERMINACIÓN (%) EN MUESTRAS DE COMPOST.

Tipo de matriz	Días de compostaje							
	0	14	28	42	56	70	84	98
Sin inocular	40.06	79.67	77.50	70.05	68.93 <sup>A</sup>	79.37 <sup>A</sup>	66.35 <sup>A</sup>	87.34 <sup>A</sup>
Inoculada	40.06	66.43	73.59	77.32	103.06 <sup>B</sup>	101.39 <sup>B</sup>	103.83 <sup>B</sup>	164.97 <sup>B</sup>

<sup>A,B</sup> Medias por columna con diferente literal, indican diferencia ( $p < 0.01$ ).

a partir de los 14 días del inicio del experimento. Martínez (2015) y Sasaki et al. (2005) han reportado la capacidad de algunas cepas bacterianas para fijar nitrógeno atmosférico, por lo que se sugiere realizar una investigación adicional enfocada a estudiar algunas capacidades del microorganismo que constituyó el inóculo elaborado.

Desde los 44 días de iniciado el PC, las matrices inoculadas presentaron un índice de germinación cercano al 80 %. Sin embargo, no se encontró diferencia ( $p > 0.05$ ) al compararlo con las matrices de referencia. Posteriormente, a partir de los 56 días, el índice de germinación de las matrices inoculadas fue superior ( $p < 0.05$ ) al de las matrices de referencia (**Cuadro VI**). Esto indica un acortamiento en la duración del PC. El compost que presenta un índice menor al 80 % es considerado como clase B, es decir, debe manejarse con precaución y con guantes. Sin embargo, una vez que el índice de germinación supera el anterior nivel, es considerado como seguro para comercializarse y libre de fitotoxicidad (SEDEMA 2011). Nolan et al. (2011) elaboraron matrices con heces de cerdo solas y otras con heces mezcladas con paja molida, y después de un período de 56 días de compostaje obtuvieron índices de 78 y 76 %, respectivamente. Es importante enfatizar que en el presente experimento se emplearon carcasas de cerdo compuestas principalmente por tejido muscular, considerado como material ligeramente recalcitrante (Epstein 2011), por lo que los resultados obtenidos se consideran relevantes. El nivel ascendente de NT obtenido se debe a que el amoníaco (la molécula nitrogenada más tóxica para las semillas y plantas, ya que no puede ser absorbida por éstos, derivada del metabolismo de los grupos amino procedentes de los aminoácidos de origen animal) fue metabolizada adecuadamente por los microorganismos (tanto autóctonos como adicionados) para producir moléculas nitrogenadas inorgánicas con mayor disponibilidad para las plantas (Komar et al. 2012, Ryckeboer et al. 2003, Sasaki et al. 2005). Las sales de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) pueden ser empleadas por las bacterias, mientras que éstas y el nitrato ( $\text{NO}_3^-$ )

pueden utilizarse para sintetizar los aminoácidos y proteínas (enzimas, proteínas de membrana, ácidos nucleicos, etc.) requeridos durante el proceso de mitosis celular (Alberts et al. 2015) empleado por los organismos productores para aumentar su biomasa (Germida y de Freitas 2008, Román et al. 2013). Christensen et al. (2002), Epstein (2011) y Román et al. (2013) informan que una vez que el compost ha perdido fitotoxicidad, se puede emplear en proyectos agrícolas (Román et al. 2013, Pérez et al. 2018) y/o comercializarse (SEDEMA 2011). Medina et al. (2018) mencionan que se requieren 170 días de PC para que combinaciones de estiércol de ovino y paja generen un producto maduro, por lo que los resultados de la presente investigación muestran que el uso del IEB formulado acortó el tiempo del PC de los residuos orgánicos empleados.

## CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Los biosólidos recolectados de la fosa de efluentes de una granja porcina pueden mezclarse con aserrín para formar una matriz que fomente el desarrollo de microorganismos con capacidad para degradar residuos orgánicos. El uso del inóculo endógeno bacteriano diseñado aceleró la descomposición de los residuos orgánicos empleados, redujo de forma significativa la presencia de *Escherichia coli* en la materia prima y generó el incremento temprano del índice de germinación del compost producido.

El presente documento muestra información técnica hasta ahora poco conocida por el subsector pecuario en México (la cual genera gran cantidad de residuos sólidos orgánicos), por lo que se facilitará el entendimiento de los procesos bioquímicos y microbiológicos ocurridos durante el proceso de compostaje. La reducción en la duración del proceso de compostaje permitirá optimizar los recursos disponibles (infraestructura, espacio, personal, maquinaria, dinero), además de fomentar la diversificación de los productos ofrecidos por una unidad de producción porcina.

## AGRADECIMIENTOS

Por la beca otorgada por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México. Así como al apoyo del proyecto de investigación PIAPI2032.

## REFERENCIAS

- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M., Roberts K. y Walter P. (2015). Cell chemistry and bioenergetics. En: Molecular biology of the cell. 6a. ed. (Bohichchio A., Lucas G., Lewis S.G. y Zayatz E., Eds.) Garland Science, Nueva York, EUA, 43-108.
- Álvarez M.C. y Mendoza E.S. (2005). Selección de medios de cultivo y fundamento de las pruebas bioquímicas. En: Manual básico de bacteriología. 2a. ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 79-126.
- Amir S., Merlina G., Pinelli E., Winterton P., Revel J.C. y Hafidi M. (2008). Microbial community dynamics during composting of sewage sludge and straw studied through phospholipid and neutral lipid analysis. J. Hazard Mater. 159 (2-3), 593-601. <https://doi.org/10.1016/j.hazmat.2008.02.062>
- Bonhot J., Schwarz M. y Rynk R. (2014). Composting animal mortalities [en línea]. <https://ecommons.cornell.edu/handle/1813/37369> 15/03/2016
- Christensen K., Carlsbaek M. y Kron E. (2002). Strategies for evaluating the sanitary quality of composting. J. Appl. Microbiol. 92 (6), 1143-1158. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01648.x>
- Eamens G.J., Dorahy C.J., Muirhead L., Enman B., Pengelly P., Barchia I.M., Gonsalves J.R. y Cooper K. (2011). Bacterial survival studies to assess the efficacy of static pile composting and above ground burial for disposal of bovine carcasses. J. Appl. Microbiol. 110 (6), 1402-1413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04999.x>
- Elving J., Ottoson J.R., Vinnera B. y Albiñ A. (2010). Growth potential of faecal bacteria in simulated psychrophilic/mesophilic zones during composting of organic waste. J. Appl. Microbiol. 108 (6), 1974-1981. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04593.x>
- Epstein E. (2011). Basic concepts of composting. En: Industrial composting: Environmental engineering and facilities management (Epstein E., Ed.). CRC Press, Group. Boca Raton, EUA, 15-24.
- Esquivel H. (2012). Evaluación sanitaria del composteo sobre la inactivación de cisticercos de *Taenia solium* en canales de cerdo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 86 pp.
- Fernández L.C., Rojas N.G., Roldán T.G., Ramírez M.E., Zegarra H.G., Uribe R., Reyes R.J., Flores D. y Arce J.M. (2006). Análisis físicos y químicos en suelo. En: Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo-Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales-Instituto Nacional de Ecología, México, 19-88.
- Gandolfi I., Sicolo M., Franzetti A., Fontanarosa E., Santagostino A. y Bestetti G. (2010). Influence of compost amendment on microbial community and ecotoxicity of hydrocarbon-contaminated soils. Bioresource Technol. 101 (2), 568-575. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.095>
- Gerba P. y Pepper I.L. (2014). Wastewater treatment and biosolids reuse. En: Environmental microbiology. 3a. ed. (Pepper I.L., Gerba C.P. y Gentry T.J., Eds.) Academic Press, Burlington, Massachusetts, EUA, 503-530.
- Germida J.J. y de Freitas J.R. (2008). Cultural methods for soil and root-associated microorganisms. En: Soil sampling and methods of analysis. (Carter M.R. y Gregorich E.G., Eds). Canadian Society of Soil Science, CRC Press, Boca Raton, Florida, EUA, 215-245.
- Huerta-Pujol O., Soliva M., Martínez-Farré F.X., Valero J. y López M. (2010). Bulk density determination as a simple and complementary tool in composting process control. Bioresource Technol. 101 (3), 995-1001. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.096>
- Komar S., Miskewitz R., Westendorf M. y Williams C.A. (2012). Effects of bedding type on compost quality of equine stall waste: Implications for small horse farms. J. Anim. Sci. 90 (3), 1069-1075. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3805>
- Martínez M.M. (2015). Microbial bioproducts for agriculture. Proceedings of the Second International Symposium on Organic Matter Management and Compost Use in Horticulture. Santiago, Chile. 21 al 24 de octubre, 71-76.
- Medina M.S., Quintero R., Espinosa D., Alarcón A., Etchevers J.D., Trinidad A. y Conde F.V. (2018). Generación de un inoculante acelerador del compostaje. Rev. Argent. Microbiol. 50 (2), 206-210. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.03.010>
- Meeker D.L. y Meisinger J.L. (2015). Rendered ingredients significantly influence sustainability, quality, and safety of pet food. J. Anim. Sci. 93, 835-847. <https://doi.org/10.2527/jas2014-8524>
- Nolan T., Troy S.M., Healy M.G., Kwapinski W., Leahy J.J. y Lawlor P.G. (2011). Characterization of compost produced from separated pig manure and a variety of bulking agents at low initial C/N ratios. Bioresource Technol. 102 (14), 7131-7138. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.066>

- Pérez Fernández A.R., Ruiz Morales M., Lobato Caleros M.O., Pérez Valera E. y Rodríguez Salinas P. (2018) Sustrato biofísico para agricultura protegida y urbana a partir de compost y agregados provenientes de los residuos sólidos urbanos. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 34 (3), 383-394. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.03.02>
- RCTR (2017). The R proyect for statistical computing. [en línea]. <https://www.r-project.org/> 10/06/2017
- Román P., Martínez M.M. y Pantoja A. (2013). Fundamentos teóricos del compostaje. En: Manual de compostaje del agricultor. Experiencias en América Latina (Wanbeke J.V., Pantoja A. y Román P., Eds.) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile, Chile, 21-44.
- Roy A., Dutta A., Pal S., Gupta A., Sarkar J., Chatterjee A., Saha A., Sarkar P., Sar P. y Kazy S.K. (2018). Bio-stimulation and bioaugmentation of native microbial community accelerated bioremediation of oil refinery sludge. *Bioresource Technol.* 253 (1), 22-32. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.004>
- Ryckeboer J., Mergaert J., Coosemans J., Deprins K. y Swings J. (2003). Microbiological aspects of bio-waste during composting in a monitored compost bin. *J. Appl. Microbiol.* 94 (1), 127-137. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01800.x>
- Sadava D.E., Hillis D.M., Heller H.C. y Berenbaum M.R. (2013). Community ecology. En: *Life: The science of biology*. 10a ed. (Freeman W.H., Ed.) MacMillan, Gordonsville, Virginia, EUA, 1188-1206.
- Sasaki H., Yano H., Sasaki T. y Nakai Y. (2005). A survey of ammonia-assimilating micro-organisms in cattle manure composting. *J. Appl. Microbiol.* 99 (6), 1356-1363. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02717.x>
- SAGAR (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-007-ZOO-1994. Campaña nacional contra la enfermedad de Aujeszky. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Diario Oficial de la Federación. 19 de septiembre de 1994.
- SAGAR (1995). Norma Oficial Mexicana NOM-037-ZOO-1995, Campaña nacional contra la fiebre porcina clásica. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Diario Oficial de la Federación. 11 de octubre de 1995.
- SAGARPA (2011). Manual de procedimientos para la prevención, control y erradicación de la Influenza aviar de alta patogenicidad. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación - Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. [En línea]. [http://www.zoonosis.unam.mx/contenido/m\\_academico/archivos/Manual\\_Emergencia\\_control\\_erradicacion\\_Influenza\\_Aviar\\_Alta\\_Patogenicidad.pdf](http://www.zoonosis.unam.mx/contenido/m_academico/archivos/Manual_Emergencia_control_erradicacion_Influenza_Aviar_Alta_Patogenicidad.pdf) 10/03/2017
- SEDEMA (2011). NADF-020-AMBT-2011. Requerimientos mínimos para la producción de composta a partir de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, agrícolas, pecuarios y forestales, así como las especificaciones mínimas de calidad de la composta producida y/o distribuida en el Distrito Federal. Secretaría del Medio Ambiente del Distrito Federal. Gaceta Oficial del Distrito Federal, 30 de noviembre.
- SSA (1994). NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Secretaría de Salud. Diario Oficial de la Federación. 15 de agosto.
- SSA (2002). NOM-087-ECOL-SSA1-2002. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-Infecciosos. Clasificación y especificaciones de manejo. Secretaría de Salud. Diario Oficial de la Federación, 17 de febrero.
- Vargas A., Trujillo M.E., Mendoza E.S. y Ayala R.A. (2012). Compostaje de cadáveres (in-site) en una granja de ciclo completo. Memorias del XLVII Congreso Nacional AMVEC, Guadalajara, Jalisco, 18 al 21 de julio, 189.
- Vargas G.M., Suárez E.F., López, M. y Moreno J. (2007). Effect of inoculation in composting processes: Modifications in lignocellulosic fraction. *Waste Manage.* 27 (9), 1099-1107. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.06.013>
- Wilkinson K. (2007). The biosecurity of on-farm mortality composting. *J. Appl. Microbiol.* 102 (3), 609-618. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03274.x>
- Xu S., McAllister T. A., Leonard J. J., Clark O. G. y Belosevic M. (2010). Assessment of microbial communities in decomposition of specified risk material using a passively aerated laboratory-scale composter. *Compost Sci. Util.* 18 (4), 255-265. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2010.10736964>
- Zhu N., Deng C., Xiong Y. y Qian H. (2004). Performance characteristics of three aeration systems in the swine manure composting. *Bioresource Technol.* 95 (3), 319-326. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.02.021>
- Zimmer M. (2008). Detritus. En: *Encyclopedia of ecology* (Jorgensen S.E. y Faith B.D., Eds). Elsevier, Amsterdam, Holanda, 903-911.
- Zucchi M., Angiolini L., Borin S., Brusetti L., Dietrich N. y Gigliotti C. (2003). Response of bacterial community during bioremediation of an oil-polluted soil. *J. Appl. Microbiol.* 94 (2), 248-257. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01826.x>

## **ANEXO I. PREPARACIÓN DE AGAR LECHE PARA MEDIOS DE CULTIVO**

Se pesaron por separado  $K_2HPO_4$  0.1 g,  $KH_2PO_4$  0.1 g,  $CaCl_2$  0.5 g, peptona universal 2.5 g, extracto de levadura 2.5 g, y se depositan en un recipiente de vidrio resistente al proceso de esterilización. Se adicionaron 700 mL de agua destilada y se homogeneizó la mezcla. Se midió el pH y se igualó con

el del extracto de compost. Se adicionaron 15 g de agar y se calentó lentamente la mezcla en mechero hasta alcanzar la ebullición suave. Por separado, se pesaron 30 g de leche en polvo (BD-DIFCO, EUA) y se disolvieron en 300 mL de agua destilada (Rickeboer et al., 2003).

## **ANEXO II. PREPARACIÓN DE AGAR CARBOXIMETILCELULOSA PARA MEDIOS DE CULTIVO**

Se pesaron por separado  $K_2HPO_4$  0.1 g,  $KH_2PO_4$  0.1 g,  $CaCl_2$  0.5 g, peptona universal 2.5 g, extracto de levadura 2.5 g, carboximetilcelulosa en polvo (Sigma-Aldrich, EUA) 10 g y se depositaron en un recipiente de vidrio resistente al proceso de esterilización. Se adicionaron 1000 mL de agua destilada, se homogeneizó la mezcla, se midió el pH y se ajustó con el del extracto de compost. Finalmente, se adicionaron 15 g de agar

y se calentó la mezcla lentamente hasta alcanzar la ebullición suave. Se esterilizó en autoclave a 121 °C por 15 min. Cuando la solución se encontró a 48 °C, se adicionaron 50 mg/L de nistatina  $\gamma$ -irradiada (Sigma-Aldrich, EUA). Para revelar las colonias formadas, se preparó una solución de rojo Congo al 1 % y se adicionó en la superficie del cultivo. Posteriormente se lavó el excedente con agua destilada.