



Trabajo Experimental de Investigación
CARACTERIZACIÓN DE HONGOS IMPLICADOS EN EL
PROCESO DE COMPOSTAJE

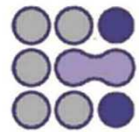


Juan Pedro Belmonte García
2015



ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

**Máster Universitario de Investigación en
Gestión, Tratamiento y Valorización de Residuos Orgánicos**



**CARACTERIZACIÓN DE HONGOS IMPLICADOS EN EL
PROCESO DE COMPOSTAJE**

Vº Bº DIRECTOR

Joaquín Moreno Casco

VºBº CODIRECTOR

María José López López

ALUMNO

Juan Pedro Belmonte García
Curso 2014-15



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

Se autoriza a la alumna **D. Juan Pedro Belmonte García**, a realizar el Trabajo Fin de Máster titulado: **"Caracterización de hongos implicados en el proceso de compostaje"**, bajo la dirección de **D. Joaquín Moreno Casco** y **D^a. M^a José López López**, debiendo cumplir las normas establecidas para la redacción del mismo que están a su disposición en la página Web específica del Master.

Orihuela, 4 de septiembre de 2015

La Directora del Máster Universitario de Investigación en Gestión, Tratamiento y Valoración de Residuos Orgánicos:



TRIBUNAL	
FECHA:	
PRESIDENTE:	FIRMA:
VOCALES:	FIRMA:
VOCALES:	FIRMA:

REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MASTER

IDENTIFICACIONES

Autor: Juan Pedro Belmonte García

Título: Caracterización de Hongos implicados en el proceso de compostaje

Title: Characterization of fungi involved in composting

Director/es del TFM: Joaquín Moreno Casco y María José López López

Año: 2015

Titulación: Máster en Gestión, Tratamiento y Valorización de Residuos Orgánicos.

Tipo de proyecto: Experimental

Palabras clave: Hongos, Residuos vegetales, Fenotipo, Morfotipo, Colonias, Microscopio.

Keywords: Fungi, Vegetal waste, Phenotype, Morphotype, Colony, Microscope.

Nº citas bibliográficas: 65

Nº de tablas: 27

Nº de figuras: 102

RESUMEN

Los elementos claves del proceso de compostaje son los microorganismos que transforman la materia orgánica hasta dar lugar a un material útil como sustrato orgánico para agricultura. En este Trabajo Fin de Máster se analizó fenotípicamente (macroscópica y microscópicamente) una colección de 263 hongos aislados a partir de residuos vegetales hortícolas sometidos a compostaje, en cada una de las fases críticas que caracterizan el proceso. Adicionalmente se identificaron dichos hongos mediante técnicas moleculares. Para su caracterización fenotípica, los hongos se sembraron en tres medios de cultivo, PDA, rosa de bengala (RB) y agar extracto de malta (AEM). Tras siete días de incubación, se obtuvieron fotografías de cada hongo y se realizó una preparación al microscopio óptico. Los hongos pertenecieron mayoritariamente al phylum Ascomycota, y los géneros más comunes fueron *Aspergillus*, *Fusarium* y *Gibellulopsis*. La diversidad fúngica del proceso fue similar a la descrita en procesos que utilizan otros materiales, técnicas de compostaje, escala o localización geográfica y que emplean métodos de detección que implican cultivo. Esta actividad ha permitido obtener un catálogo de hongos cultivables asociados al compostaje facilitando además su mantenimiento.

ABSTRACT

The key elements during composting are the microorganisms that biotransform organic matter into a useful organic substrate for agricultural applications. The aim of this work was to analyze the phenotype (macroscopic and microscopic) of 263 fungi isolated from composting piles of horticultural wastes at different stages of the process. In addition, the fungi were identified by using molecular techniques. For phenotypic characterization, the fungi were cultured in three media; PDA, Rose Bengal (RB) and agar malt extract (AEM). After incubation for 7 days, a picture was taken from each fungi and an optical microscopic preparation was also obtained. The fungi mostly belonged to phylum Ascomycota, and the more common genera were *Aspergillus*, *Fusarium* and *Gibellulopsis*. Fungal diversity was similar to that reported for other composting processes using different raw materials, composting techniques, scale or geographic location but using culture-dependent methods. This work allowed to phenotypically catalogue the culturable fungi from composting. This tool is useful for its proper maintenance.

AGRADECIMIENTOS

Ha sido mucha la gente que me ha apoyado a lo largo de esta etapa, y me han animado a que no me rindiera cuando las cosas no me salían bien y tenía que volver a repetir los ensayos.

En primer lugar agradecer a mi familia el esfuerzo tan grande que ha hecho por mí para que yo pueda realizar este proyecto. Sobre todo a mi madre Angelita, mi hermano Francisco Javier y mi abuela Lola que me han apoyado moral y económicamente, aguantando mis malos humores y mis nervios, y estando ahí cuando más falta me hacía. Me han enseñado que la familia tiene que estar unida en lo bueno y en lo malo, y que las derrotas y las victorias de uno es de todos.

En segundo lugar darle las gracias a todo el equipo de investigación de Microbiología de la Universidad de Almería, porque me han enseñado más de lo que pensaba que podía aprender, ayudándome en todo momento y preparándome muchas veces el trabajo cuando no me daba tiempo. A parte de unos conocimientos microbiológicos, este grupo me han enseñado lo que es el compañerismo y el trabajo en grupo, ya que nunca he tenido problemas con ellos de ningún tipo y el trabajo de uno era de todos. Hemos sido una familia unida, cuando uno necesitaba ayuda iba el otro a ayudar sin renegar, y gracias a este compañerismo las horas se hacían menos duras y se podía aprender con facilidad. Por eso quiero darles las gracias a este grupo y decirles que ha sido un placer trabajar con ellos.

En tercer lugar agradecer a mis directores del TFM Joaquín Moreno Casco y María José López López por el gran esfuerzo que han hecho conmigo. Me dieron una oportunidad para poder compaginar mi trabajo laboral con el TFM y siempre se han adaptado a mi necesidad. Han tenido mucha paciencia conmigo con todos mis fallos y esto me ha enseñado a que aprendiera de mis errores y no volver a cometerlos. El cariño que les tengo es muy grande, ya que han sido como unos padres para mí, porque ha sido tanto lo que he aprendido con ellos que me faltarían páginas para describir todo. Con ellos no solo he aprendido lo que es el compostaje, sus etapas, los géneros fúngicos de este proceso, etc., sino que también he adquirido unos conocimientos informáticos, y he aprendido a buscar información fiable en los distintos recursos electrónicos. Por todo ello quiero darles las gracias y decirles que les voy a estar eternamente agradecido por todo lo que han hecho por mí y por darme esta gran oportunidad.

Índice

1. Introducción	1
1.1. Compostaje	1
1.1.1. Definición y fases.....	1
1.1.2. Control del proceso	8
1.1.3. Cualidades del compost	12
1.2. Microbiota asociada al proceso de compostaje.....	13
1.2.1. Población fúngica del compostaje.....	14
1.3. Características de los hongos.....	17
2. Objetivos	21
3. Material y métodos	22
3.1. Colección de hongos: Aislamiento y mantenimiento.....	22
3.2. Caracterización macroscópica de hongos	24
3.3. Caracterización microscópica de hongos	25
3.4. Identificación molecular de hongos	25
4. Resultados y Discusión	28
4.1. Descripción fenotípica e identificación de los hongos.....	28
4.1.1. Phylum Ascomycota: Clase Dothideomycetes	30
4.1.2. Phylum Ascomycota: Clase Eurotiomycetes	38
4.1.3. Phylum Ascomycota: Clase Leotiomycetes	69
4.1.4. Phylum Ascomycota: Clase Pezizomycetes.....	70
4.1.5. Phylum Ascomycota: Clase Saccharomycetes.....	71
4.1.6. Phylum Ascomycota: Clase Sordariomycetes	84
4.1.7. Phylum Basidiomycota: Clase Microbotryomycetes.....	124
4.1.8. Phylum Basidiomycota: Clase Tremellomycetes.....	127
4.1.9. Hongos no identificados.....	129
4.2. Comparativa con hongos aislados de otros hábitats	133
5. Conclusiones.....	138
6. Bibliografía	138

1. Introducción

El conocimiento de los microorganismos implicados en la transformación de la materia orgánica durante el proceso de compostaje es de crucial importancia para mejorar su eficiencia y permitir su control. Este Trabajo Fin de Máster se centra en la caracterización de los hongos que intervienen en el compostaje de residuos vegetales. Por ello, en esta introducción se describe el concepto de compostaje y sus fases, así como los aspectos más importantes relativos a su control, cualidades del producto que se obtiene y el estado actual del conocimiento sobre los hongos asociados al proceso de compostaje. Adicionalmente se especifican conceptos básicos sobre los hongos.

1.1. Compostaje

1.1.1. Definición y fases

El compostaje es un proceso natural en el que la materia orgánica contenida en residuos es biotransformada por microorganismos (bacterias y hongos) en presencia de oxígeno, generando un producto estable humificado, junto con gases, agua y calor, como productos del metabolismo microbiano (Figura 1).

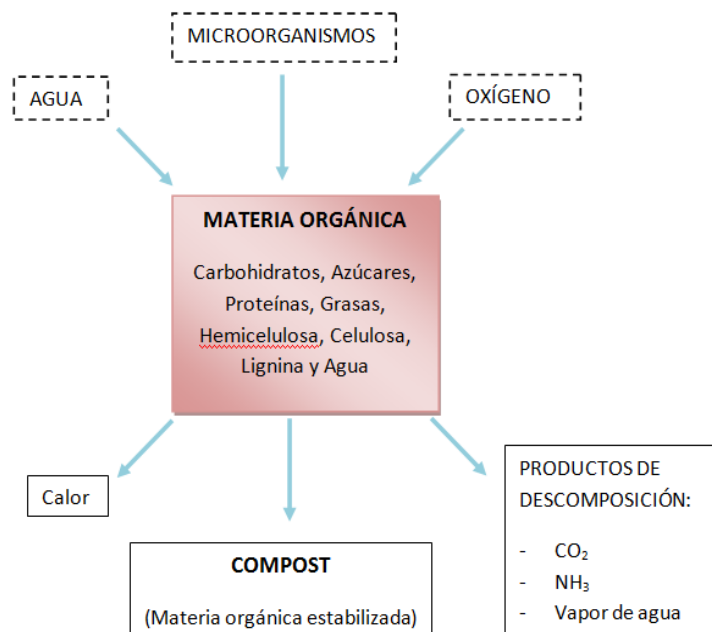


Figura 1. Esquema general del proceso de compostaje (modificado de Haug, 1993).

Durante el compostaje se produce una compleja interacción entre los restos orgánicos, los microorganismos, el oxígeno y el calor. Es importante entender cómo influyen estos parámetros en el ecosistema microbiano para mejorar la eficiencia del proceso y permitir su control. Este control debe dirigirse tanto a la aceleración de la transformación de la materia orgánica, como a la minimización de cualquier riesgo medioambiental (Moreno y Mormeneo, 2008). Este proceso no sólo persigue biotransformar la materia orgánica para obtener un producto agrícola, también permite higienizar los residuos, mediante la destrucción o reducción de los microorganismos patógenos; inhibir la capacidad germinativa de las semillas; reducir la generación de olores en el producto final; biodescontaminar compuestos como pesticidas, derivados del petróleo, explosivos y otros contaminantes ambientales; y estabilizar la materia orgánica, reduciendo su volumen. Adicionalmente, la pila de compostaje constituye en sí una fuente de microorganismos y productos de interés biotecnológico.

El proceso de compostaje y el uso agrícola del compost podría ser tan antiguo como la misma práctica agrícola. La primera referencia escrita conocida sobre el compostaje se recoge en una tabla de arcilla realizada durante el imperio Acadio en Mesopotamia, aproximadamente 2300 a.C. (Rodale et al., 1960). Sin embargo, no fue hasta principios del siglo XX que se publicaron los primeros resultados de estudios controlados sobre la producción y los usos del compost (Howard y Wad, 1931). Estos inicios científicos corresponden principalmente a los trabajos desarrollados por sir Albert Howard (1873-1947), considerado el padre del compostaje moderno. Sir Albert fue un botánico inglés que ejerció parte de su carrera en la India colonial. Durante su estancia en la ciudad de Indore como director del Instituto de la Industria de Plantas (1924-31), desarrolló un método de compostaje denominado "Método Indore", que mejoró posteriormente en el "Método Bangalore". En estos procesos, el compost se preparaba mediante un sistema de apilamiento multicapa, en el que se combinaban capas de material con elevada relación C/N, como residuos vegetales, con material con baja relación C/N, como los excrementos animales. Así por ejemplo, en el método Indore la capa base de la pila de compostaje estaba constituida por restos de plantas,

sobre la cual se apilaba el material orgánico a compostar en capas, primero restos vegetales verdes (15cm), seguida de otra capa de 5cm de estiércol, cubierta a su vez por una fina capa de suelo y caliza molida. Los materiales se apilaban de esta forma en capas hasta formar una pila de 1,5m de altura, 1,5-3m de ancho y de longitud variable. La pila era volteada cada 6 semanas y el proceso duraba unos 4-6 meses. Estos estudios además ilustraron los beneficios del uso del compost en la producción agrícola, ayudaron a aumentar el interés en el proceso y auspiciaron la construcción de las primeras plantas industriales de compostaje (Fitzpatrick et al., 2005).

En el Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes se define el compostaje como *“proceso controlado de transformación biológica aeróbica y termófila de materiales orgánicos biodegradables que da lugar a los tipos de abonos o enmiendas orgánicos, cuyas características se detallan en los grupos 2 y 6 del anexo I”* Estos abonos (grupo 2) o enmiendas (grupo 6) se diferencian entre sí principalmente por el material sometido a compostaje (Tabla 1).

Tabla 1. Características del compost según Real Decreto 506/2013.

Denominación	Obtención y Componentes	Requisitos
Enmienda orgánica Compost	Producto higienizado y estabilizado, obtenido mediante descomposición biológica aeróbica de materiales orgánicos biodegradables del Anexo IV	<ul style="list-style-type: none"> - Materia orgánica total: 35%. - Humedad máxima: 40%. - C/N < 20 - No contendrán impurezas e inertes de ningún tipo. - El 90% de partículas pasarán por malla de 25mm.
Enmienda orgánica Compost vegetal.	Producto higienizado y estabilizado, obtenido mediante descomposición biológica aeróbica, exclusivamente de hojas, hierba cortada y restos vegetales o de poda.	<ul style="list-style-type: none"> - Materia orgánica total: 40%. - Humedad máxima: 40%. - C/N < 15 - No contendrán impurezas e inertes de ningún tipo.
Enmienda orgánica Compost de estiércol.	Producto higienizado y estabilizado, obtenido mediante descomposición biológica aeróbica, exclusivamente de estiércol.	<ul style="list-style-type: none"> - Materia orgánica total: 35%. - Humedad máxima: 40%. - C/N < 20 - No contendrán impurezas e inertes de ningún tipo.
Compost de alperujo	Producto obtenido por descomposición biológica y estabilización de la materia orgánica procedente del alperujo.	<ul style="list-style-type: none"> - Materia orgánica total: 45% - Humedad máxima: 40% - Relación C/N < 20 - No contendrán impurezas e inertes de ningún tipo. - Contenido máximo en polifenoles: 0,8%
Abono orgánico NPK de origen animal	Producto sólido obtenido por tratamiento de excrementos de animales sin ácidos minerales. Se incluyen restos de pescado compostado	<ul style="list-style-type: none"> - N+P₂O₅+K₂O₅: 6% - C/N > 10 - Cada nutriente ≥ 1,5% - N orgánico ≥ 50% de N total, con un mínimo del 1% - El N nítrico no debe exceder del 1,5%

Sustratos

En principio, cualquier material de naturaleza orgánica y biodegradable (susceptible de ataque por microorganismos) puede ser utilizado como sustrato para el compostaje. Tal y como se ha especificado previamente, el sustrato empleado condiciona el tipo de compost a obtener y su catalogación. Así, el compost procedente de residuos vegetales, el que se obtiene por biotransformación de pescado o el de alperujo, están claramente diferenciados de compost obtenidos a partir de otros materiales biodegradables. Estos últimos, denominados genéricamente “Enmienda Orgánica Compost” se producen utilizando residuos orgánicos biodegradables aptos para el proceso de compostaje, indicados en el Anexo IV del Real Decreto 506/2013 (Tabla 2).

Tabla 2. Residuos biodegradables aptos para compostaje (Real Decreto 506/2013), se incluyen capítulos y subcapítulos de la lista indicada en el Anexo IV.

➤	02 RESIDUOS DE LA AGRICULTURA, HORTICULTURA, ACUICULTURA, SILVICULTURA, CAZA Y PESCA; RESIDUOS DE LA PREPARACION Y ELABORACION DE ALIMENTOS
	<ul style="list-style-type: none"> • 02 01 Residuos de la agricultura, horticultura, acuicultura, silvicultura, caza y pesca. • 02 02 Residuos de la preparación y elaboración de carne, pescado y otros alimentos de origen animal (salvo lo exceptuado en el Reglamento 1026/2009). • 02 03 Residuos de la preparación y elaboración de frutas, hortalizas, cereales, aceites comestibles, cacao, café, té y tabaco; producción de conservas; producción de levadura y extracto de levadura, preparación y fermentación de melazas. • 02 04 Residuos de la elaboración de azúcar. • 02 05 Residuos de la industria de productos lácteos. • 02 06 Residuos de la industria de panadería y pastelería. • 02 07 Residuos de la producción de bebidas alcohólicas y no alcohólicas (excepto café, té y cacao).
➤	03 RESIDUOS DE LA TRANSFORMACION DE LA MADERA Y DE LA PRODUCCION DE TABLEROS Y MUEBLES, PASTA DE PAPEL, PAPEL Y CARTON
	<ul style="list-style-type: none"> • 03 01 Residuos de la transformación de la madera y de la producción de tableros y muebles. • 03 03 Residuos de la producción y transformación de pasta de papel, papel y cartón.
➤	04 RESIDUOS DE LAS INDUSTRIAS DEL CUERO, DE LA PIEL Y TEXTIL
	<ul style="list-style-type: none"> • 04 01 Residuos de las industrias del cuero y de la piel. • 04 02 Residuos de la industria textil.
➤	19 RESIDUOS DE LAS INSTALACIONES PARA EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS
	<ul style="list-style-type: none"> • 19 05 Residuos del tratamiento aeróbico de residuos sólidos. • 19 06 Residuos del tratamiento anaeróbico de residuos • 19 08 Residuos de plantas de tratamiento de aguas residuales no especificadas en otra categoría.
➤	20 RESIDUOS MUNICIPALES (RESIDUO DOMÉSTICOS Y RESIDUOS ASIMILABLES PROCEDENTES DE LOS COMERCIOS, INDUSTRIAS E INSTITUCIONES), INCLUIDAS LAS FRACCIONES RECOGIDAS SELECTIVAMENTE
	<ul style="list-style-type: none"> • 20 01 Fracciones recogidas selectivamente. • 20 02 Residuos de parques y jardines. • 20 03 Otros residuos municipales

Los residuos agrícolas son uno de los sustratos más utilizados para compostaje, bien como elemento principal o mezclado con otros residuos como agentes acondicionadores o estructurantes. Estos residuos son definidos por la Agencia Europea del Medio Ambiente como *“aquellos materiales inutilizables, sólidos o líquidos, que resultan de las prácticas agrícolas”*, y pueden incluir residuos procedentes de las actividades fundamentales agrícolas (cultivo de cereales, pastos, frutales, etc.), ganaderas (cría extensiva o intensiva) y, en ocasiones, los resultantes de actividades de transformación de productos agrícolas (extracción de aceite de oliva, conservas, etc.) (López et al., 2015; Vargas-García et al., 2014). Desde el punto de vista de su aplicación como sustratos para compostaje, los residuos agrícolas, principalmente los restos de cosecha presentan un contenido hídrico y fracción mineral muy variable; elevado contenido de materia orgánica, constituida mayoritariamente por lignocelulosa; y generalmente poseen un porcentaje de C elevado, mientras que el de N suele ser bajo, por lo que tienen una elevada relación C/ N (Vargas-García et al., 2014).

Fases

El proceso de compostaje se desarrolla de forma adecuada siempre y cuando se disponga de material debidamente acondicionado cuya biotransformación por los microorganismos genera calor, el cual debe conservarse amontonando los residuos en pilas de dimensiones adecuadas. Para facilitar el proceso es conveniente que el material tenga una relación C/N de 25-30, que esté triturado (1-5 cm) y humectado (40-50%) y, además, se debe asegurar el acceso de oxígeno (8-12%) en la masa de material sometida a compostaje. En estas condiciones se desarrollan poblaciones complejas de microorganismos aeróbicas que actúan de forma secuencial sobre la materia orgánica.

De acuerdo con las variaciones térmicas y las reacciones metabólicas predominantes, en el compostaje se reconocen tradicionalmente cuatro fases (Figura 2): fase mesófila (10-42 °C); fase termófila (45-70 °C); fase de enfriamiento o segunda fase mesófila; y fase de maduración. Alternativamente el proceso se puede dividir en dos fases globales que se diferencian en los niveles de actividad microbiana y sustratos disponibles (Figura 2): Fase bio-oxidativa y Fase de maduración. En la fase bio-

oxidativa, existe elevada proporción de materia orgánica biodegradable, la actividad microbiana es intensa y el material experimenta fluctuaciones de temperatura, con sucesión de fases mesófilas y termófilas en función de que la temperatura esté por debajo o por encima 40 °C. Estas fases se activarían en operaciones de volteo y concluirían una vez que la producción de calor decrece debido al agotamiento de compuestos fácilmente biodegradables y, como consecuencia de la reducción de la actividad microbiana. En la fase de maduración, la materia orgánica es menos biodegradable, se reduce la actividad microbiana y la temperatura del material no varía. A continuación describen las principales características de las cuatro fases tradicionales del proceso.

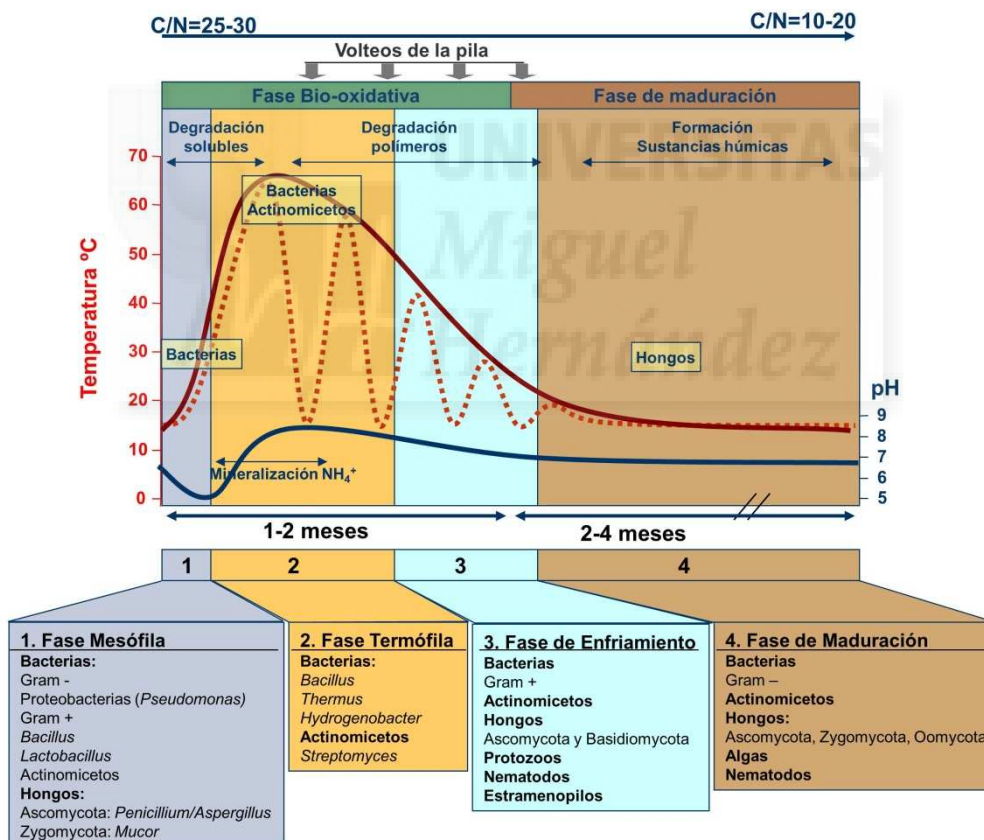


Figura 2. Sucesión microbiana y ambiental durante el compostaje (Moreno y Mormeneo, 2008).

Fase mesófila: En esta etapa abundan las bacterias y hongos mesófilos y termotolerantes y el número de actinomicetos permanece relativamente bajo. Se incrementa rápidamente la temperatura (de 10 a 40 °C). El pH disminuye desde un

valor neutro hasta 5,5-6 debido a la descomposición de lípidos y glúcidos en ácidos orgánicos y de proteínas en aminoácidos, lo que favorece la aparición de hongos mesófilos más tolerantes a las variaciones del pH y humedad (Tuomela et al., 2000). En esta etapa la relación C/N es de especial importancia, ya que el carbono aporta la energía a los microorganismos y el nitrógeno es esencial para la síntesis de nuevas moléculas. Por ello la relación debe estar en torno a 30. Si se supera esta proporción la actividad biológica disminuye, mientras que proporciones superiores de N provocan el agotamiento rápido del oxígeno, y la pérdida del exceso en forma de amoníaco. Las bacterias con metabolismo oxidativo y fermentativo, son las que alcanzan mayores niveles en esta fase, principalmente bacterias Gram negativas y productoras de ácido láctico, que crecen rápido a expensas de compuestos fácilmente degradables. La actividad metabólica de los microorganismos en esta fase da lugar a un aumento rápido de la temperatura, lo que ocasiona la transición de microbiota mesófila a termófila cuando se alcanzan 42 a 45 °C, iniciándose la fase termófila (Ryckeboer et al., 2003a). Esta etapa es de corta duración completándose entre las primeras 24 o 48 horas.

Fase termófila: En esta fase la temperatura continúa ascendiendo debido a la actividad microbiana hasta llegar a valores de 60-70 °C debido a la actividad de los microorganismos termófilos que relevan a las poblaciones de bacterias y hongos mesófilos, las cuales mueren o permanecen en estado de latencia en esta fase.

La degradación de los ácidos orgánicos producidos en la etapa anterior provoca el incremento del pH pasando desde 5,5 hasta 7,5, permaneciendo posteriormente casi constante hasta el final del proceso. Es en esta etapa cuando se produce la higienización del material debido entre otros factores a las altas temperaturas. La mayoría de semillas y patógenos como *Escherichia coli* mueren al estar sometidos durante días a temperaturas superiores a 55 °C.

Por encima de los 60 °C, el calor *per se* inhibe a los microorganismos, pero también actúa limitando el suministro de oxígeno (la solubilidad del oxígeno en agua es menor a mayor temperatura). Esto provoca una disminución de la actividad microbiana y, como consecuencia, una caída en la temperatura.

Fase de enfriamiento: En esta fase predominan los hongos y actinomicetos capaces de degradar los compuestos complejos. Los sustratos fácilmente asimilables ya han sido metabolizados y solo permanece la parte de materia orgánica químicamente más compleja. La actividad microbiana se reduce, ya que la fuente de carbono comienza a ser un factor limitante y la temperatura disminuye por la baja actividad metabólica microbiana (Albrecht et al., 2010). Si en esta fase se llevara a cabo el volteo de la pila, el proceso se reiniciaría a la fase mesófila-termófila, ya que materiales no degradados se introducen en el interior de la pila.

Fase de maduración: Es un período que puede llegar a durar hasta 3 meses, en el que se produce una lenta biodegradación de moléculas recalcitrantes, poco biodegradables, y la materia orgánica parcialmente degradada se reestructura para dar lugar a la formación de sustancias parecidas a los compuestos húmicos. La actividad microbiana en esta fase es menor que en las anteriores pero no está ausente y a ella contribuye la presencia de protozoos, nematodos y miriápodos.

1.1.2. Control del proceso

Para que se obtenga un compost útil y adecuado para su función, durante el compostaje se deben controlar algunas variables que se clasifican en dos tipos:

- Parámetros relativos a la naturaleza del sustrato: Incluye aquellos parámetros que han de ser medidos y adecuados a sus valores correctos fundamentalmente al inicio del proceso (Madejón et al., 2001).
- Parámetros de seguimiento: Incluye aquellos parámetros que han de ser medidos y monitorizados durante todo el proceso y, en caso necesario, deben ser corregidos para que sus valores se encuentren en los intervalos considerados correctos para cada fase del proceso (Bueno et al., 2008).

Parámetros relativos a la naturaleza del sustrato

Tamaño de partícula: Cuanto mayor sea la superficie por unidad de masa del material sometido a compostaje expuesta al ataque microbiano, más rápida y completa será la

biotransformación, facilitando el ataque de los microorganismos y, como consecuencia, la velocidad del proceso. Así un pequeño tamaño de partícula provoca una gran superficie de contacto para el ataque microbiano. No obstante debe tenerse en cuenta que también se reduce el espacio entre partículas, por lo que no es aconsejable que el material sea muy fino (tamaño de partícula muy reducido) debido a que se puede compactar limitando el acceso de oxígeno (Haug, 1993). Las dimensiones consideradas óptimas son distintas según los criterios de distintos autores, variando entre 1 y 5 cm (Haug, 1993), entre 2 y 5 cm (Kiehl, 1985) o entre 2,5 y 2,7 cm (Tchobanogolus et al., 1994) y dependen del tipo de material a compostar.

Materia orgánica y nutrientes: En el sustrato destacan en mayor medida el C, N y P, considerados fundamentales para el desarrollo microbiano. En menor medida, pero importantes para la síntesis de enzimas, en el metabolismo de los microorganismos y en los mecanismos de transporte intra y extracelular, se encuentran el boro, calcio, cloro, cobalto, cobre, hierro, magnesio, manganeso, molibdeno, selenio, sodio y zinc (Miyatake et al., 2006).

El carbono y el nitrógeno son dos elementos importantes en el proceso de compostaje, ya que principalmente soportan el crecimiento microbiano y son los elementos básicos de la materia orgánica a compostar. Los microorganismos utilizan generalmente 30 partes de C por cada parte de N; por esta razón se considera que el intervalo de C/N teóricamente óptimo para el compostaje de un producto es de 25-35 (Jhorar y al., 1991). Si la relación C/N es mayor de 40, disminuye la actividad biológica al estar el nitrógeno limitado y los microorganismos deben oxidar el exceso de carbono con la consiguiente ralentización del proceso. Si la relación C/N es muy baja, inferior a 18-19, el compostaje es rápido pero el exceso de nitrógeno se desprende en forma de amoníaco (Jhorar et al., 1991; Bueno et al., 2008). Durante el proceso la relación C/N disminuye principalmente porque parte del carbono es liberado en forma de CO₂ en los procesos respiratorios aeróbicos de los microorganismos. Para que un compost se considere estable y maduro, la relación C/N del material debe ser inferior a 20. No obstante este criterio no es suficiente para establecer la finalización del proceso, ya que dependerá también de los materiales a compostar. Para asegurar la estabilidad del

compost se debe conocer el balance de nutrientes desde el inicio hasta el final del proceso (Sánchez-Monedero, 2001). En la Figura 3 se muestra la evolución de la relación C/N en las distintas fases del proceso de compostaje.

Por otra parte, el fósforo es el nutriente más importante, tras el C y el N, por lo que también debe estar presente en unas cantidades óptimas. La relación C/P óptima para el compostaje se encuentra entre 75 y 150, mientras que la relación N/P debe estar entre 5 y 20 (Bueno et al., 2008).

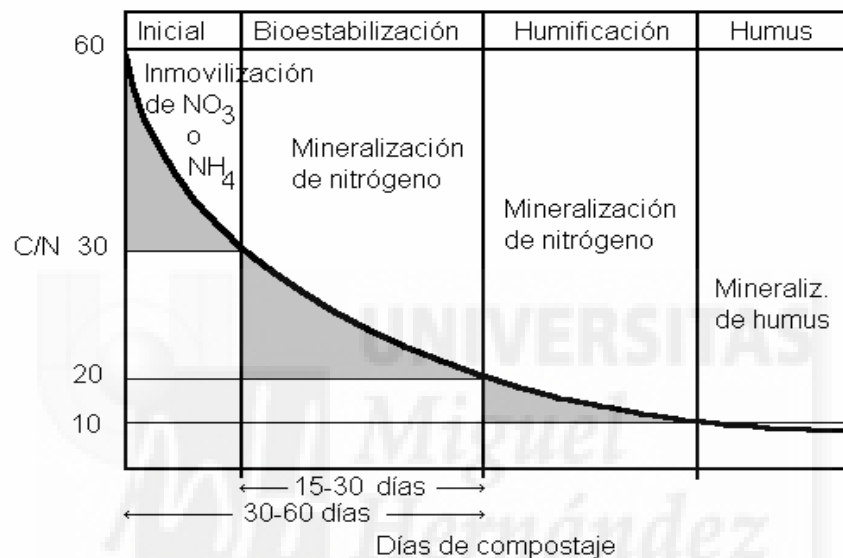


Figura 3. Evolución característica de la relación C/N durante el proceso de compostaje (Bueno et al., 2008)

La materia orgánica se reduce durante el compostaje debido a que es mineralizada por la actividad microbiana con la consiguiente pérdida de carbono, pudiendo representar un 20% en peso de la materia compostada (Zucconi et al., 1987). Este descenso transcurre en dos etapas (Zucconi et., 1987):

- En la primera se produce un rápido decrecimiento de los carbohidratos, transformándose las cadenas carbonadas largas en otras más cortas con la producción de compuestos simples; algunos de los cuales se reagrupan para formar moléculas complejas dando lugar a los compuestos húmicos mientras que otras son metabolizadas por los microorganismos para dar CO_2 y H_2O como productos finales, además de biomasa celular.

- En la segunda etapa, una vez consumidos los compuestos lábiles, otros materiales más resistentes como las ligninas se van degradando lentamente, constituyendo el núcleo de los compuestos húmicos en cuya formación también intervienen productos de degradación de la etapa anterior (Tomati et al., 2000; Castaldi y al., 2005). Generalmente este último cambio no finaliza durante el tiempo que dura el compostaje, y el compost sigue sufriendo lentos cambios una vez incorporado al suelo.

Parámetros de seguimiento

Temperatura: La temperatura es considerada como una variable fundamental en el control del compostaje (Liang et al., 2003; Miyatake et al., 2006) ya que pequeñas variaciones de temperatura afectan a la actividad microbiana. Se consideran óptimas temperaturas en el intervalo de 35 a 55 °C para conseguir la eliminación de patógenos, parásitos y semillas de malas hierbas (Sztern y Pravia 2002).

Humedad: Los microorganismos requieren un entorno acuoso para desarrollar sus actividades metabólicas, el agua disuelve compuestos que pueden incorporarse fácilmente al interior celular. No obstante, una cantidad de agua excesiva no es recomendable ya que el exceso de agua desplazaría el aire de los espacios porosos, produciendo condiciones anaerobias y, como consecuencia se activaría el metabolismo anoxico que produce malos olores, entre otros efectos. La humedad óptima varía según el método de compostaje empleado, el tamaño de la pila y la composición del material. El grado óptimo idóneo está entre 50 y 60%, pero esto dependerá también del material. Por ejemplo, para materiales fibrosos o residuos forestales, el grado idóneo es de 75-85%, mientras que para el material fresco es de 75-85% (Bueno et al., 2008).

Conductividad eléctrica: Debido a la mineralización de la materia orgánica, la conductividad eléctrica tiende a aumentar durante el proceso de compostaje, aunque se han detectado descensos en algunos casos por fenómenos de lixiviación en la masa, provocados por una humectación excesiva de la misma (Bueno et al., 2008).

pH: Mediante el seguimiento del pH se puede obtener una medida indirecta del control de la aireación de la mezcla, ya que si en algún momento se crean condiciones anaeróbicas se liberan ácidos orgánicos que provocan el descenso del pH. En general

los hongos toleran un margen de pH entre 5-8, mientras que las bacterias tienen menor capacidad de tolerancia (pH= 6-7,5)(Bueno et al., 2008)

Aireación: En el compostaje es necesaria la aireación de las pilas para que se desarrollen los microorganismos aeróbicos (Moreno y Mormeneo, 2008). Si la aireación es mínima se sustituyen los microorganismos aerobios por anaerobios, con el consiguiente retardo en la descomposición y la producción de metano, sulfuro de hidrógeno, otros compuestos azufrados y compuestos orgánicos que son el origen de malos olores (Bidlemaier, 1996). Por el contrario, un exceso de ventilación, provoca el enfriamiento de la masa y una alta desecación, con la consiguiente reducción de la actividad metabólica microbiana (Zhu, 2006; Bueno et al., 2008).

1.1.3. Cualidades del compost

La aplicación de compost al suelo es una de las principales formas de generar fertilidad sostenible en los sistemas agrícolas, debido, no sólo al aprovechamiento de los nutrientes para los cultivos que contienen estos materiales, sino a toda una serie de beneficios asociados de tipo físico-químico, químico y biológico que se describen en la Tabla 3.

Tabla 3. Propiedades más relevantes del compost (Urbano, 1992; Vargas-García y Suárez-Estrella, 2008).

PROPIEDADES	EFECTOS DEL COMPOST
QUÍMICAS	<ul style="list-style-type: none"> - Aumenta el poder tampón y regula el pH - Aumenta la capacidad de cambio catiónico - Mantiene los cationes de forma cambiante - Forma fosfhumatos y quelatos. - Mantiene las reservas de nitrógeno.
FÍSICAS	<ul style="list-style-type: none"> - Facilita el drenaje y reduce la erosión - Mejora el balance hídrico - Da soltura a los suelos arcillosos y cohesiona los arenosos - Aumenta la permeabilidad hídrica y gaseosa - Aumenta la estabilidad estructural
BIOLÓGICAS	<ul style="list-style-type: none"> - Aumenta la actividad microbiana. - Aumenta la producción de determinados cultivos vegetales. - Favorece el estado sanitario de los órganos subterráneos. - Favorece germinación de semillas y respiración radicular. - Contribuye a la fitoestabilización de suelos. - Aporta microorganismos supresores de patógenos. - Actúa como agente de Control Biológico, activando los sistemas de defensa del hospedador frente a patógenos.

1.2. Microbiota asociada al proceso de compostaje

Durante el compostaje se desarrolla una amplia variedad de microorganismos que afectan tanto positiva como negativamente al proceso. Los microorganismos beneficiosos son aquellos que biotransforman la materia orgánica para generar compost, los degradadores de contaminantes, y antagonistas de patógenos; mientras que entre los perjudiciales se encuentran los generadores de malos olores y gases con efecto invernadero, además de los microorganismos patógenos (Moreno y Mormeneo, 2008). Entre los microorganismos implicados en la transformación de la materia orgánica se incluyen principalmente bacterias y hongos, y algunos estudios han detectado también la presencia de arqueas. El proceso debe conducirse al desarrollo predominante de microorganismos con metabolismo aerobio y, de acuerdo a su tolerancia a la temperatura se dividen en mesófilos, termófilos y termotolerantes (Moreno y Mormeneo 2008). En cada proceso se pueden encontrar distintos microorganismos dependiendo de los sustratos, el tipo de operación del proceso y las condiciones ambientales externas. Hasta la actualidad se han descrito más de 150 especies distintas de bacterias y más de 400 especies de hongos (Ryckeboer et al., 2003a; López-Gonzalez et al., 2015a, 2015b).

Entre las bacterias identificadas, se incluyen diversas especies pertenecientes a los phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria y a los géneros *Hydrogenobacter* y *Thermus* (Haruta et al., 2005; López-González et al., 2015a). Los géneros más frecuentes en la mayoría de procesos de compostaje son *Bacillus*, *Pseudomonas* y la actinobacteria *Streptomyces* (Moreno y Mormeneo, 2008; López-González et al., 2015a).

Los hongos pertenecen mayoritariamente al phylum Ascomycota (López-González et al., 2015b). Las clases *Ascomycetes*, *Zygomycetes*, *Basidiomycetes*, *Saccharomycetes* y *Ureidomycetes* incluyen diversos hongos frecuentemente detectados en compostaje (Ryckeboer et al., 2003a; Anastasi et al., 2005; López-González et al., 2015b). Adicionalmente en algunos estudios también se ha encontrado el oomiceto *Pythium*, incluido dentro del grupo de los Chromistas, al presentar grandes diferencias con respecto a los hongos verdaderos pertenecientes al Reino Fungi. Los

géneros fúngicos más frecuentes en el proceso de compostaje son *Aspergillus*, *Mortierella*, *Fusarium*, *Chaetomium* y *Scopulariopsis*. Respecto a las levaduras, las más comunes pertenecen a los géneros *Candida*, *Rhodotorula*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Torulopsis* y *Trichosporon* (Moreno y Mormeneo, 2008).

1.2.1. Población fúngica del compostaje

Los hongos aparecen mayoritariamente en las primeras etapas del proceso de compostaje, fase mesófila, no obstante algunos soportan temperaturas entorno a los 60 °C (Salar y Aneja, 2007). En la fase mesófila los hongos dominantes incluyen especies de los géneros *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Emericella*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mortierella*, *Mucor*, *Penicillium*, *Pseudallescheria*, *Scopulariopsis* y *Trichoderma*. Entre los géneros termotolerantes, capaces de soportar temperaturas elevadas destacan *Absidia*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Coprinus*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Rhizomucor*, *Scytalidium* y *Thermomyces* (Waksman et al., 1939; Ghazifard et al., 2001; Vijay et al., 2002; Ryckeboer et al., 2003a; Anastasi et al., 2005; López-González et al., 2015b). En las Tablas 4a-b se muestran los hongos descritos en el compostaje.

En general los hongos toleran mejor las situaciones ácidas y el escaso suministro de calcio que otros organismos. Disponen de diversos métodos para sobrevivir en condiciones desfavorables tales como elevadas temperaturas (producción de esporas en cuerpos fructificantes, clamidosporas, etc.). Presentan como característica destacable su implicación en procesos de biorremediación durante el compostaje. Su elevado potencial metabólico y su crecimiento micelial posibilitan este papel permitiéndoles reducir los niveles de contaminantes en el producto final, ya sean de naturaleza orgánica u orgánica (Zeng et al., 2006). Son destacables los sistemas enzimáticos relacionados con la degradación de la lignina, actividad en la que predominan de forma mayoritaria los basidiomicetos, mientras que los ascomicetos destacan sobre todo en la transformación de macromoléculas polisacáridicas (Dashtban et al., 2011). Destacan como agentes de control biológico durante el compostaje (Suárez Estrella et al., 2007). Entre los géneros fúngicos presentes en compostaje que exhiben capacidad antagonista, ya sea por la producción de antibióticos o la competición por nutrientes, cabe citar *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, o *Gliocladium* (Santos et al., 2008; de Bertoldi, 2010).

Tabla 4a. Géneros fúngicos destacados en el compostaje (modificado de Moreno y Mormeneo, 2008).

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género		
Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Davidiellaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>Heterosporium</i>	
		Dothideales	Dothioraceae	<i>Aureobasidium</i>	<i>Pullularia</i>	
		No asignado	Myxotrichaceae	<i>Malbranchea</i>	<i>Oidiodendron</i>	
			Pseudeurotiaceae	<i>Pseudogymnoascus</i>		
		Pleosporales	Leptosphaeriaceae	<i>Coniothyrium</i>		
			No asignado	<i>Farlowiella</i>	<i>Phoma</i>	
			Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>Curvularia</i>	
				<i>Epicoccum</i>	<i>Macrosporium</i>	
				<i>Pithomyces</i>	<i>Stemphylium</i>	
			<i>Ulocladium</i>			
		Sporormiaceae	<i>Preussia</i>	<i>Westerdykella</i>		
	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae	<i>Exophiala</i>	<i>Phialophora</i>	
				<i>Rhinocladiella</i>		
		Eurotiales	No asignado	<i>Thermomyces</i>		
				Thermoascaceae	<i>Thermoascus</i>	
				Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	<i>Emericella</i>
					<i>Eurotium</i>	<i>Fennellia</i>
					<i>Neosartorya</i>	<i>Paecilomyces</i>
			<i>Penicillium</i>	<i>Talaromyces</i>		
			<i>Thysanophora</i>			
		Onygenales	Gymnoascaceae	<i>Gymnascella</i>		
				No asignado	<i>Myceliophthora</i>	
				Onygenaceae	<i>Aphanoascus</i>	<i>Chrysosporium</i>
		Leotiomycetes	Erysiphales	Erysiphaceae	<i>Oidium</i>	<i>Oospora</i>
	Helotiales		Dermateaceae	<i>Mollisia</i>		
			No asignado	<i>Dactylaria</i>	<i>Scytalidium</i>	
			Sclerotiniaceae	<i>Botryotinia</i>	<i>Botrytis</i>	
			<i>Monilia</i>			
No asignado	No asignado	No asignado	<i>Geomyces</i>			
No asignado	No asignado	No asignado	<i>Acremoniella</i>	<i>Acrophialophora</i>		
			<i>Botryosporium</i>	<i>Gilmaniella</i>		
			<i>Harpoglyphium</i>	<i>Hormiscium</i>		
			<i>Scolecobasidium</i>	<i>Spicaria</i>		
			<i>Staphylotrichum</i>	<i>Torulopsis</i>		
Orbiliomycetes	Orbiliales	Orbiliaceae	<i>Arthrobotrys</i>			
Pezizomycetes	Pezizales	Ascodesmidaceae	<i>Ascodesmis</i>			
		No asignado	<i>Cephaliophora</i>	<i>Oedocephalum</i>		
		Pezizaceae	<i>Peziza</i>			
		Pyronemataceae	<i>Trichophaea</i>			
Saccharomycetes	Saccharomycetales	Dipodascaceae	<i>Geotrichum</i>			
		No asignado	<i>Candida</i>			
		Pichiaceae	<i>Pichia</i>			
		Saccharomycetaceae	<i>Kluyveromyces</i>			

Tabla 4b. Géneros fúngicos destacados en el compostaje (modificado de Moreno y Mormeneo, 2008).

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	
Ascomycota	Sordariomycetes	Diaporthales	Phomopsis	<i>Phomopsis</i>	
		Hypocreales	Bionectriaceae	<i>Clonostachys</i>	
			Clavicipitaceae	<i>Metarhizium</i>	
			Cordycipitaceae	<i>Beauveria</i>	
				<i>Engyodontium</i>	
			Hypocreaceae	<i>Gliocladium</i>	<i>Hypocrea</i>
				<i>Hypomyces</i>	<i>Mycogone</i>
				<i>Sepedonium</i>	<i>Trichoderma</i>
			Nectriaceae	<i>Cylindrocarpon</i>	<i>Fusarium</i>
				<i>Nectria</i>	<i>Volutella</i>
			No asignado	<i>Acremonium</i>	<i>Geosmithia</i>
		<i>Gliomastix</i>		<i>Myrothecium</i>	
		<i>Stachybotrys</i>		<i>Trichothecium</i>	
		Microascales	Ceratocystidaceae	<i>Thielaviopsis</i>	
			Microascaceae	<i>Doratomyces</i>	<i>Graphium</i>
				<i>Microascus</i>	<i>Pseudallescheria</i>
				<i>Scedosporium</i>	<i>Scopulariopsis</i>
			<i>Trichurus</i>		
		No asignado	Apiosporaceae	<i>Apiospora</i>	<i>Arthrinium</i>
			No asignado	<i>Papulaspora</i>	
			Plectosphaerellaceae	<i>Plectosporium</i>	<i>Verticillium</i>
		Ophiostomatales	Ophiostomataceae	<i>Leptographium</i>	<i>Sporothrix</i>
		Sordariales	Cephalothecaceae	<i>Phialemonium</i>	
				Chaetomiaceae	<i>Botryotrichum</i>
				<i>Corynascus</i>	<i>Humicola</i>
				<i>Thielavia</i>	<i>Trichocladium</i>
			No asignado	<i>Melanocarpus</i>	
	Sordariaceae	<i>Gelasinospora</i>	<i>Sordaria</i>		
Trichosphaeriales	No asignado	<i>Nigrospora</i>			
Xylariales	Diatrypaceae	<i>Eutypella</i>			
	Xylariaceae	<i>Ascotricha</i>			
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Agaricaceae	<i>Agaricus</i>	<i>Coprinus</i>
			Entolomataceae	<i>Clitopilus</i>	
			Mycenaceae	<i>Mycena</i>	
			No asignado	<i>Panaeolus</i>	
			Physalacriaceae	<i>Armillaria</i>	
			Pleurotaceae	<i>Pleurotus</i>	
		Cantharellales	Hydnaceae	<i>Sistotrema</i>	
		Gloeophyllales	Gloeophyllaceae	<i>Gloeophyllum</i>	
		Polyporales	Fomitopsidaceae	<i>Sporotrichum</i>	
			Polyporaceae	<i>Fomes</i>	<i>Lentinus</i>
				<i>Lenzites</i>	<i>Trametes</i>
		Russulales	Stereaceae	<i>Stereum</i>	
		Microbotryomycetes	Sporidiobolales	No asignado	<i>Rhodotorula</i>
Tremellomycetes	Tremellales	Trichosporonaceae	<i>Trichosporon</i>		
Zygomycota	No asignado	Mortierellales	Mortierellaceae	<i>Mortierella</i>	
		Mucorales	Cunninghamellaceae	<i>Cunninghamella</i>	
			Mucoraceae	<i>Absidia</i>	<i>Actinomucor</i>
				<i>Circinella</i>	<i>Mucor</i>
				<i>Rhizomucor</i>	<i>Rhizopus</i>
			<i>Zygorhynchus</i>		
		Syncephalastraceae	<i>Syncephalastrum</i>		
		Zoopagales	Piptocephalidaceae	<i>Piptocephalis</i>	<i>Syncephalis</i>
Zoopagaceae	<i>Stylopage</i>				

1.3. Características de los hongos

Los hongos poseen una estructura celular eucariota y pertenecen al Reino *Fungi*. Tienen una nutrición heterótrofa, produciendo enzimas que degradan el sustrato para poder ser absorbido. Son pluricelulares, aunque también hay con algunos unicelulares como las levaduras. Presentan una amplia diversidad en cuanto al tipo de reproducción y una gran capacidad para la formación de estructuras de resistencia. Su amplia diversidad metabólica los convierte en importantes descomponedores de compuestos recalcitrantes, así como miembros de numerosas relaciones mutualistas y parásitas (Taylor et al., 2004).

Algunos de ellos pueden asimilar entre el 30 y 50% del carbono presente en la materia orgánica que descomponen, lo que representa una tasa de conversión muy superior a la de las bacterias, que es del 5 al 20%. Esto significa que el crecimiento muy rápido de los hongos puede originar una elevada demanda del nitrógeno disponible en el suelo, aunque ésta puede quedar mitigada por su relación C/N, que es superior a la que presentan las bacterias (Wild, 1992).

La actividad de los hongos impacta significativamente sobre el medio ambiente. Este amplio grupo microbiano participa activamente en los ciclos biogeoquímicos del carbono actuando principalmente descomponedores primarios de material orgánico. Los procesos industriales (por ejemplo la producción de muchos productos industriales de gran importancia económica se basa en la explotación de la levadura y el metabolismo de hongos, incluyéndose en productos como los alimentos enteros, aditivos alimentarios, bebidas fermentadas, antibióticos, etc.) y la salud humana (algunas levaduras y hongos representan los principales agentes patógenos potencialmente mortales oportunistas, mientras que otros son salvavidas, como agentes quimioterapéuticos) (Walker y White, 2011).

De acuerdo con el Diccionario de Hongos (Hawksworth et al, 1995), este reino tiene aproximadamente 103 órdenes, 484 familias, 4.979 géneros y unas 80.000 especies descritas, aunque diversos cálculos teóricos estiman que el número de especies fúngicas podría alcanzar 1.5 millones (Schmidt y Mueller, 2007). Durante los últimos 10 años ha variado la clasificación de los hongos en cuanto al reconocimiento de las diferentes divisiones contempladas (Figura 4). Actualmente, según el Diccionario

de Hongos, el reino Fungi se divide en ocho filos: Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Microspora, Neocallimastigomycota y Zygomycota.

Pero los cambios no han sido significativos en número, ya que se estima que sólo se describieron una media de 223 especies por año, muchas de las cuales pertenecían al grupo de los Ascomycetos. El 90% de los hongos restantes, que no han sido aún identificados, se postula que puedan ser habitantes mayoritarios de los trópicos y las profundidades marinas (Hawksworth, 2001; Mora et al., 2011).

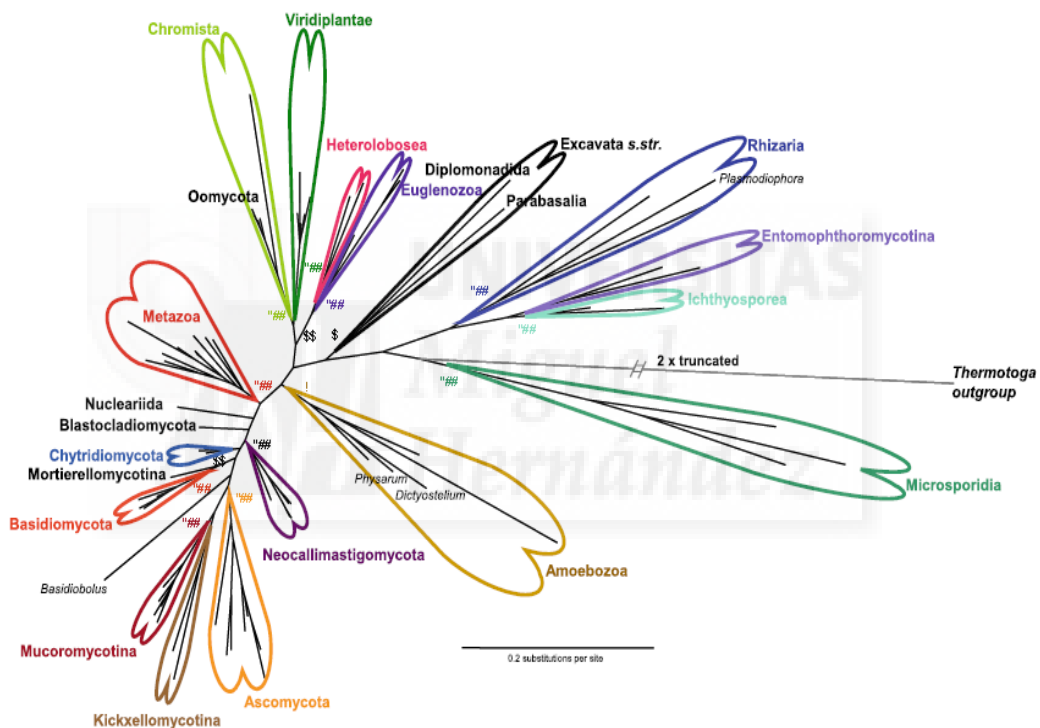


Figura 4. Mapa filogenético del Reino Fungi (Voigt y Kirk, 2011).

En general presentan una elevada capacidad de adaptación a diversas condiciones, muchos pueden sobrevivir en condiciones secas y algunos son anaerobios facultativos, pudiendo estar activos incluso en condiciones limitadas de oxígeno (Dix y Webster 1995). Además, muchas especies son degradadores de sustratos altamente recalcitrantes como la lignina (revisado en Tuomela et al. 2000). Ambos aspectos, les confieren una notable ventaja competitiva frente a otros microorganismos como bacterias.

Desde el punto de vista estructural los hongos filamentosos o mohos presentan hifas, tubos de longitud variable formados por una pared celular rígida, en el que fluye protoplasma. El diámetro de las hifas varía de 1 a 30 micrometros; puede presentar ramificaciones y termina en punta. La zona apical de la hifa constituye la zona de extensión del hongo representando la región de crecimiento. Cuando los hongos filamentosos crecen en medios solidos con agar, las hifas forman un entramado denominado micelio que, normalmente se expande radialmente desde la zona de siembra y por encima (micelio aéreo) y debajo (micelio subterráneo o sumergido) del medio, formando una colonia tridimensional esférica (Walker y White, 2011). Los hongos superiores presentan tabiques transversales en sus hifas que se denominan “septos” denominándose en tal caso hifas tabicadas. Estos septos presentan poros que permiten el paso del citoplasma y el núcleo, de ahí que las hifas no constituyen en sí células sino compartimientos. Los hongos inferiores tienen hifas continuas o cenocíticas, carecen de tabiques (aseptadas), o muestran muy pocos y solo se presentan para aislar las partes viejas o las reproductoras.

La levaduras son organismos unicelulares cuyo tamaño puede variar ampliamente entre 2-3 μm y 20-50 μm de longitud y 1-10 μm de ancho (Walker y White, 2011). En su mayoría pertenecen a la clase *Ascomycetes* aunque también pertenecen a esta categoría algunos *Basidiomicetos*. Estos microorganismos se dividen asexualmente por gemación o fisión. Presentan una amplia diversidad morfológica en medios sólidos con agar en cuanto a color, textura y geometría, aunque se asemejan más a las colonias de bacterias que a las de hongos filamentosos. Así pueden presentar una amplia gama de colores desde el crema (*S. cerevisiae*), blanco (*Geotrichum candidum*), negro (*Aureobasidium pullulans*), rosa (*Phaffia rhodozyma*), rojo (*Rhodotorula rubra*), naranja (*Rhodosporidium spp.*) y amarillo (*Cryptococcus laurentii*) (Walker y White, 2011). Algunos hongos, y en especial los patógenos, son organismos dimórficos, es decir, pueden cambiar de estructura de levadura a micelial en respuesta a los factores ambientales.

Las hifas se desarrollan a partir de una espora por emisión de un tubo germinativo; la forma más simple ocurre por crecimiento apical de las hifas; no hay crecimiento intercalar, pero las células no terminales pueden emitir ramificaciones. La

reproducción se realiza por medio de esporas que pueden ser asexuales o sexuales (García, 2004) Las esporas sexuales resultan de la unión entre dos organismos diferentes o hifas, mientras que las asexuales se forman a partir de una división interna simple o por modificación de una hifa individual. Las esporas son una importante herramienta para la identificación de hongos ya que son bastante estables en cuanto a forma, tamaño y color para un determinado hongo.

Las estructuras reproductoras asexuales de un hongo se denominan anamorfos, que, junto con las estructuras reproductoras sexuales o teleomorfos, constituyen el holomorfo u hongo completo (García, 2004). Algunos hongos se encuentran sólo como anamorfos y no pueden ser convenientemente clasificados. Los micólogos han utilizado un sistema de clasificación que permite nombrar aparte a los anamorfos de los holomorfos de los que forman parte. Como consecuencia, algunos hongos pueden tener más de un nombre. Por ejemplo, el nombre *Eurotium repens* se relaciona con un holomorfo, mientras que *Aspergillus repens* se relaciona con el anamorfo del mismo hongo (García, 2004).

Las principales estructuras de reproducción asexual (mitosporas) se incluyen en dos categorías:

- Esporangiosporas: esporas producidas dentro del esporangio (formado a partir de la punta de la hifa asemejándose a un globo), que se libera al medio cuando éste se rompe. Pueden ser móviles (zoosporas) o inmóviles.
- Conidiosporas o conidios: esporas formadas en la punta de las hifas, denominadas conidióforos. Pueden ser simples, como en *Sporotrichum sp*, ramificados como en *Penicilium sp*, o más elaborados como en *Aspergillus sp*. Existen dos tipos de conidios:
 - Conidios tálicos: se forman a partir de un trozo de hifa preexistente, en la parte terminal o intercalar de una hifa se forma un conidio después de la constitución de un tabique. Dentro de este tipo se distinguen dos formas: Holotálica (se modifica un trozo de la hifa y da un único conidio) y Ártricos (la hifa se modifica generando diferentes conidios).
 - Conidios blásticos: se forma a partir de un material nuevo mediante gemación, como en las levaduras.

En las formas de reproducción sexual (telomorfa) se produce la fusión de los núcleos compatibles, que posteriormente dan origen a las esporas sexuales. Se producen con menos frecuencias que las asexuales. Estas esporas (meiosporas) son de pared gruesa y muy resistente a las condiciones ambientales. Se forman mediante meiosis. Necesitan un tiempo de latencia antes de germinar y dar individuos. Se reconocen habitualmente tres grandes grupos:

- Zigosporas: se producen mediante la fusión de los gametangios, dentro del Zigoto. Las especies de la Clase Zygomycota presentan este tipo de esporas.
- Ascoporas: se forman dentro del asca y se encuentran en especies de la clase *Ascomycota*.
- Basidiosporas: se forman en el basidio. Predominan en especies de la clase *Basidiomycota*.

2. Objetivos

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Máster fue analizar fenotípicamente (macroscópica y microscópicamente) e identificar mediante métodos moleculares una amplia colección de hongos aislados a partir de residuos vegetales hortícolas sometidos a compostaje, en cada una de las fases críticas que caracterizan el proceso, con el objeto obtener un catálogo de hongos cultivables asociados al compostaje que facilite además su mantenimiento.

Para la consecución de dicho objetivo se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Organizar la colección de hongos de acuerdo con los resultados de identificación molecular.
2. Determinar las características morfológicas macroscópicas en distintos medios de cultivo de la colección de hongos.
3. Determinar las características morfológicas microscópicas de la colección de hongos.
4. Realizar un estudio comparativo de los hongos analizados de acuerdo con su hábitat.

3. Material y métodos

3.1. Colección de hongos: Aislamiento y mantenimiento

Los hongos empleados en este TFM forman parte de una colección obtenida en estudios llevados a cabo en el grupo de investigación BIO-175 del Área de Microbiología de la Universidad de Almería en dos proyectos financiados por el Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2009-08405 y AGL2012-36434). Dichos estudios tenían como objetivo el análisis de la microbiota asociada al proceso de compostaje, la evaluación de sus actividades metabólicas con interés biotecnológico y el estudio de su capacidad para ser usados como bioaumentadores del compostaje. A continuación se realiza una breve descripción de la metodología desarrollada para la obtención de los aislados utilizados en este TFM.

El proceso de compostaje se llevó a cabo en la planta piloto de compostaje del Grupo de Investigación BIO-175 localizada en las instalaciones del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Para el proceso de compostaje se usaron restos de plantas de tomate procedentes de la actividad hortícola intensiva local, libres de guías de entutorado y frutos. A este sustrato (relación C/N=14) fue necesario añadirle astillas de pino en una proporción 1:1 en peso para conseguir una relación C/N de 25, adecuada para el proceso de compostaje. El material vegetal seco fue molido mediante una Briotrituradora móvil Hércules Schredder 4000 Profi, y las astillas de pino se trituraron en un molino de martillos, con motor ABB modelo M2AA 132 SB-2, con el fin de obtener un tamaño de partícula que oscila entre 5 y 15 mm.

La mezcla de sustratos se apiló en una solera de hormigón armado (zona bio-oxidativa) dotada de un sistema de aireación forzada, en 3 pilas trapezoidales de 1 x 1,5 x 1,2 m (ancho x largo x alto respectivamente). Durante la constitución de las pilas, se incorporó suficiente agua para alcanzar una humedad del 50% en toda la masa del material. Las pilas se sometieron a aireación y volteos periódicos, determinados por los valores términos alcanzados en el interior de las pilas durante la fase bio-oxidativa (42 días) y a enfriamiento y curado durante 147 días.

Durante el proceso de compostaje se recogieron un total de 19 muestras en las fases críticas del proceso, de acuerdo con la temporalización indicada en la Tabla 5.

Tabla 5. Muestreos realizados durante el compostaje

Condiciones	Muestra	Día del proceso
Materias Primas	MPR	0
Mesófila en Ascenso	MESA1	1
Termófila	TER1A	2
Termófila	TER1B	5
Mesófila en Descenso	MESD1	7
Mesófila en Ascenso	MESA2	8
Termófila	TER2A	9
Termófila	TER2B	12
Mesófila en Descenso	MESD2	14
Mesófila en Ascenso	MESA3	15
Termófila	TER3A	16
Mesófila en Descenso	MESD3	26
Mesófila en Ascenso	MESA4	28
Enfriamiento	MES5	42
Enfriamiento	MES6	56
Enfriamiento	MES7	63
Maduración	MAD1	119
Maduración	MAD2	168
Producto final	PRF	189

Para el muestreo se fijaron nueve puntos de la pila, con el objetivo de tener muestras representativas, considerando para ello tres niveles de profundidad, longitud y anchura, y combinándolos entre sí, para que no se repitiesen en cada uno del punto de muestreo establecido. Se mezclaron y homogenizaron a partes iguales cada submuestra, dando lugar a una sola muestra compacta y uniforme.

Las muestras obtenidas se llevaron al laboratorio para procesarlas en fresco y cuantificar los hongos mesófilos y termófilos. Para ello, las muestras fueron suspendidas en proporción 1/10 (p/v) en solución salina estéril (NaCl, 0,9%, p/v) y se realizaron diluciones decimales seriadas, que se sembraron en placas con medio Rosa de Bengala (Cultimed, Panreac, Barcelona).

Tras 96-120 días de cultivo a 30 °C (mesófilos) o 50 °C (termófilos), se seleccionaron las placas en las que se podía efectuar un recuento colonial fiable, y en ellas se seleccionaron y contaron los diferentes morfotipos coloniales. Para efectuar el

recuento de colonias, cada placa se fotografió con una cámara Canon modelo EOS450D, dotada con objetivo Zoom EF-S18-55 mm f/3.5-5.6 IS, y los distintos morfotipos coloniales fueron identificados y contados en las imágenes correspondientes.

Cada uno de los morfotipos detectados en el proceso de recuento descrito se aislaron en placas con PDA (Cultimed, Panreac, Barcelona) hasta conseguir cultivos puros. Estos aislamientos supusieron el punto de partida de la colección de hongos en estudio (cepas aisladas). Cada morfotipo singular que apareció por primera vez en una muestra se denominó “cepa tipo” y todas las comparaciones morfológicas se realizaron respecto a ella. La cepas tipo se nombraron con un código que informa del grupo microbiano (HM-hongos mesófilos; HT-hongos termófilos), el muestreo (MPR a PRF), repetición de pila (1, 2 o 3), repetición de placa (A o B) y nº de morfotipo identificado en placa (1, 2, 3...). Esta información se ofrece en el siguiente orden: grupo-muestreo-repetición pila y muestra-nº de morfotipo en placa.

Las “cepas tipo” de hongos que se obtuvieron, constituyeron la colección que se estudió en este Trabajo. El mantenimiento de los aislados se realizó de dos formas:

- Para la conservación a corto plazo y manejo rutinario, las cepas fueron sembradas mensualmente en PDA en placa o en tubo de agar inclinado.
- Para la conservación a largo plazo, dependiendo de su tolerancia, las cepas fueron liofilizadas con leche descremada en liofilizador Telstar Lyoalfa (Telstar, Terrasa) o criogenizadas a -80°C en glicerol al 20% o en sistema Cryoinstant (Deltalab, Barcelona).

3.2. Caracterización macroscópica de hongos

A partir de los cultivos puros de los hongos en PDA inclinado se realizó una siembra en placas con tres medios diferentes: Rosa Bengala (Cultimed, Panreac, Barcelona), Extracto de Malta (Cultimed, Panreac, Barcelona) y PDA (Cultimed, Panreac, Barcelona). Los hongos mesófilos se incubaron durante 7 días a 30 °C y los termófilos a 50 °C durante 4 días. Tras el período de cultivo se realizaron fotografías de los hongos crecidos en cada uno de los tres medios con una cámara Canon modelo EOS

450D, dotada con objetivo Zoom EF-S18-55 MM f/3.5-5.6 IS para poder obtener un catálogo fotográfico de las distintas cepas fúngicas y caracterizar los morfotipos coloniales.

3.3. Caracterización microscópica de hongos

Para la caracterización microscópica se utilizaron los cultivos de los hongos en PDA descritos en el apartado anterior a partir de los cuales se realizaron preparaciones para su observación al microscopio. El micelio del hongo se recogió con asa de platino a partir del borde de la colonia, zona con crecimiento activo del microorganismo, y se realizó una suspensión en una gota de agua destilada colocada en portaobjetos. En caso necesario se incorporó azul de metileno a la suspensión para facilitar la visualización. Tras cubrir la suspensión con un cubreobjetos, la preparación se observó con objetivo 40x al microscopio óptico MOTIC (MOTICAM 10.0 MP). Las imágenes se capturaron y editaron con el programa MOTIC IMAGES PLUS 2.0.

3.4. Identificación molecular de hongos

La colección de los hongos fue identificada mediante amplificación y secuenciación de la región ITS (ITS1/ITS4) (Internal Transcribed Spacer) del ADN ribosomal (ADNr) (Jurado et al., 2014). La identificación molecular de los aislados se efectuó en trabajos anteriores, acometiéndose en este TFM una reidentificación a partir de las secuencias facilitadas, como entrenamiento.

La región ITS del DNA ribosomal (DNAr) (White et al., 1990) es la que más se utiliza en la actualidad para la identificación molecular de hongos. Esto es debido a su mayor grado de variabilidad respecto a otras regiones génicas como las correspondientes a los genes 18S (SSU, small subunit) o 25-28S (LSU, large subunit) (Figura 5).

El protocolo global para dicho análisis consta de una fase de extracción del ADN a partir de un cultivo puro de la cepa a identificar; seguido de la amplificación de la región ITS mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR); verificación de la obtención del fragmento amplificado mediante electroforesis en gel de agarosa y

purificación del fragmento amplificado; finalmente, el fragmento fue secuenciado y analizado las secuencias obtenidas.

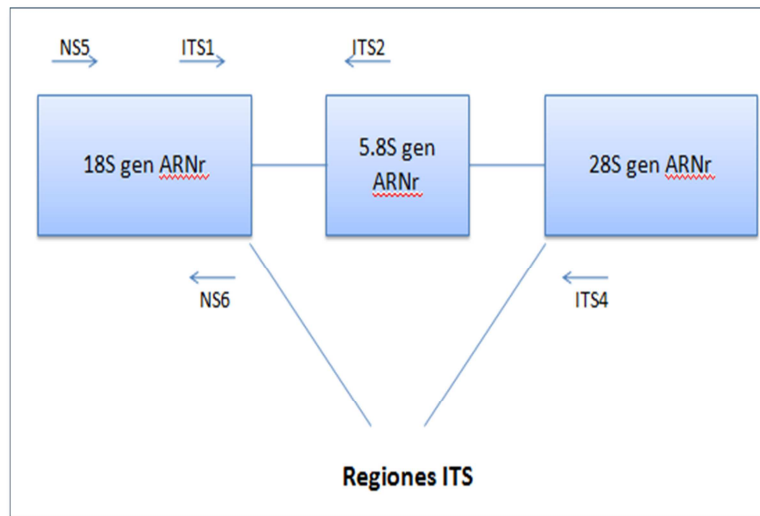


Figura 5. Estructura del gen ADNr y posiciones de los cebadores fúngicos utilizados en la amplificación por PCR. El gen se divide en regiones codificantes (18S, 5.8S y 28S) y regiones no codificantes (Internal Transcribed Spacer o ITS). Las posiciones de los cebadores para amplificación y su dirección de síntesis se muestran con flechas (modificado de Lilley y Chinabut, 1999)

La extracción del ADN fúngico se realizó mediante el Kit comercial plant DNAZOL® Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU) según instrucciones del fabricante. La amplificación de las secuencias génicas se efectuó en un termociclador MyCycler (Biorad, California, EEUU), con cebadores ITS1/ITS4 para hongos, y con las condiciones de amplificación que se muestran en la Tabla 6. Para la realización de la PCR se utilizó el kit Mastermix 2,0 X Taq DNA Polymerase 2,0MM (GenoTechnology Inc.), preparando las mezclas de cada muestra con los siguientes volúmenes: Kit Mastermix de PCR: 10 µL, Cebador ITS1: 0,4 µL, Cebador ITS4 0,4 µL, ADN muestra 2 µL, agua miliQ 7,2 µL.

Tabla 6. Programa de amplificación de la región ITS.

Programa de amplificación	
Desnaturalización inicial	94°C - 10 min
Desnaturalización inicial	94°C - 1 min
Alineamiento	51°C - 1 min
Elongación	72°C - 3 min
Elongación final	72°C - 10 min

30 ciclos

La longitud de los fragmentos amplificados se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% con tampón SB (Invitrogen) suplementado con 0,002% de GelRed TM (Biotium, Hayward, EEUU) y comparados con el marcador DNA ladder (50-10.000pb DirectLoad TM Wide Range DNA Marker, Sigma-Aldrich, EEUU). Las bandas se visualizaron con luz UV en transiluminador y se analizaron con el software Gel DocTMXR + System (Biorad, California, EEUU).

Los productos de PCR fueron purificados con el Kit Diffinity Rapid Tips® for PCR purification (Sigma-Aldrich, EEUU) y secuenciados en el servicio de secuenciación de la Universidad de Almería.

La identificación de los distintos organismos se realizó con parte o la totalidad de las secuencias alineadas y la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLASTn), que compara las secuencias con otras pertenecientes a la base de datos del National Center of Biotechnology Information (NCBI), disponible on line en www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST.

Para la alineación de las secuencias se emplearon los programas informáticos: Applied Biosystem Sequence Scanner v1.0 (disponible en www.appliedbiosystems.com) que permite visualizar y editar las secuencias sentido (forward) y antisentido (reverse); la aplicación Reverse Complement (disponible on line www.bioinformatics.org) que genera el reverso complementario (RCR) del fragmento antisentido (Reverse); y el MEGA 5 v 5.2, que realiza los alineamientos mediante la herramienta Clustal W y permite la edición y copia de las secuencias.

La clasificación taxonómica de los hongos identificados se realizó según "Catalogue of Life" (Roskov et al., 2015) disponible online (<http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2015/>).

4. Resultados y Discusión

En este apartado se detallan los resultados obtenidos en este TFM organizados en dos bloques. En primer lugar se aporta la descripción fenotípica y la identificación de los hongos aislados a partir del proceso de compostaje. Posteriormente, se realiza una comparativa con hongos aislados a partir de otros hábitats.

4.1. Descripción fenotípica e identificación de los hongos

El análisis de los aislados fúngicos permitió identificar 263 cepas que pertenecieron a 2 phyla, Ascomycota y Basidiomycota (Figura 6). Únicamente 8 cepas no pudieron ser identificadas por problemas en la amplificación del gen. La mayoría de los hongos pertenecieron al phylum Ascomycota (244 cepas) e incluyeron representantes de 6 clases, con predominio de la clase Sordariomycetes (107 cepas), seguido de Eurotiomycetes, Saccharomycetes y Dothideomycetes. Las clases Letiomycetes y Pezizomycetes contaron con un único representante. El phylum Basidiomycota estuvo representado por 11 cepas pertenecientes a 2 Clases, Microbotryomycetes y Tremellomycetes.

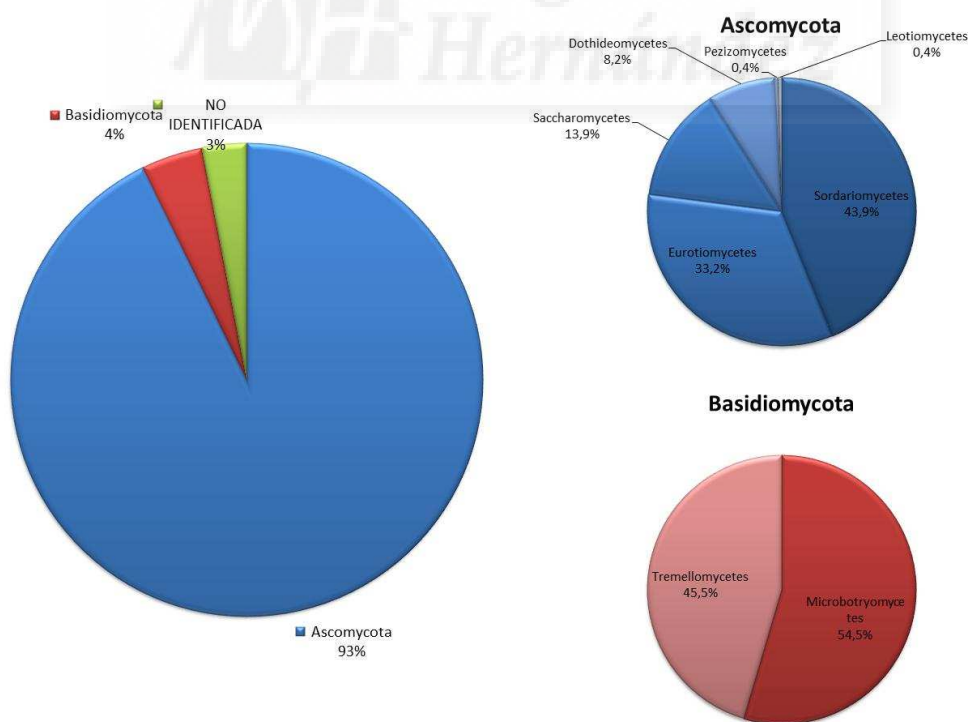


Figura 6. Distribución porcentual de las cepas identificadas por phylum (izquierda) y clases de cada phylum (derecha).

Los hongos identificados pertenecieron a 39 géneros diferentes con predominio de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Gibellulopsis*, *Penicillium* y *Scopulariopsis*, que, en conjunto, agrupan al 57% de las cepas (Figura 7). El número de especies diferentes fue de 71.

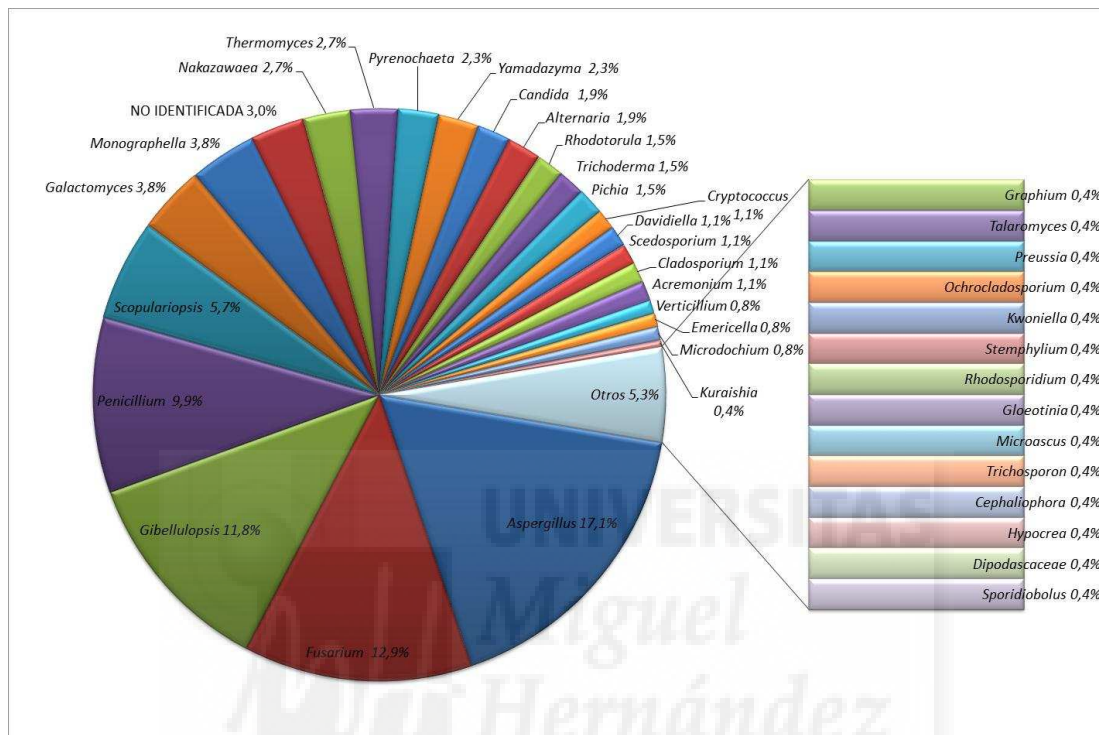


Figura 7. Distribución porcentual de los géneros fúngicos.

A continuación se describen las principales características de las cepas fúngicas aisladas en el proceso de compostaje detallado en este TFM. Esta descripción se realiza organizada por clases. En cada caso se indican los datos de identificación, la abundancia de la cepa correspondiente durante el proceso de compostaje, y las muestras en las que fue detectada. Finalmente, se muestran las imágenes de ilustran las características fenotípicas tanto macroscópicas como microscópicas de cada cepa. Además de las fotografías de los hongos incubados durante siete días en tres medios de cultivo diferentes, PDA, rosa de bengala (RB) y agar extracto de malta (AEM), se incluye una fotografía del detalle de la colonia crecida en RB y diversas fotografías al microscopio óptico. En algunos casos no fue posible obtener imágenes y no se presentan. Además, en determinados casos puede aparecer algún contaminante acompañando al cultivo principal que, para este trabajo no fue posible descartar.

4.1.1. Phylum Ascomycota: Clase Dothideomycetes

La clase Dothideomycetes estuvo representada por 20 cepas pertenecientes a 7 géneros incluidos en dos órdenes, Capnodiales y Pleosporales (Tabla 7a). Todas las cepas de esta clase fueron mesófilas y se presentaron en baja proporción durante el proceso de compostaje, constituyendo entre el 0,1 y 6,7% de la población total de hongos (Tabla 7b). Las especies más frecuentemente detectadas fueron *Ochrocladosporium frigidarii*, *Cladosporium lignicola*, *Mycosphaerella tassiana* y *Pyrenochaeta unguis-hominis*, las cuales estuvieron presentes en 8 o 9 muestreos.

Tabla 7a. Hongos de la clase Dothideomycetes identificados*.

Id General	Termofilia	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	N. Acceso
Orden Capnodiales						
4966	0	HM	HM-TER3A-1B-06	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	100	EF577236.1
4334	1	HM	HM-MESA1-1B-07	<i>Cladosporium lignicola</i>	99	AF393709.2
4424	0	HM	HM-TER1A-1B-06	<i>Cladosporium lignicola</i>	100	AF393702.2
4192	0	HM	HM-MPR-1A-08	<i>Davidiella tassiana</i>	99	FN868485.1
4213	0	HM	HM-MPR-1B-11	<i>Davidiella tassiana</i>	99	FN868485.1
4372	0	HM	HM-MESA1-3A-05	<i>Davidiella tassiana</i>	99	FN868485.1
Orden Pleosporales						
4432	0	HM	HM-TER1A-1B-14	<i>Alternaria alternata</i>	100	GU797144.1
4546	0	HM	HM-TER1B-2B-05	<i>Alternaria alternata</i>	99	GQ121322.2
4759	0	HM	HM-TER2A-2B-04	<i>Alternaria alternata</i>	100	GQ121322.2
4197	0	HM	HM-MPR-1A-13	<i>Alternaria brassicae</i>	99	HQ674659.1
4764	0	HM	HM-TER2A-2B-09	<i>Alternaria tenuissima</i>	99	KC329619.1
4685	1	HM	HM-MESA2-1B-10	<i>Ochrocladosporium frigidarii</i>	97	FJ755255.1
4953	0	HM	HM-MESA3-3B-09	<i>Preussia australis</i>	89	HQ608018.1
4316	0	HM	HM-MESA1-1A-10	<i>Pyrenochaeta sp.</i>	99	EU750693.1
4206	0	HM	HM-MPR-1B-04	<i>Pyrenochaeta unguis-hominis</i>	99	EU930010.1
4404	0	HM	HM-TER1A-1A-08	<i>Pyrenochaeta unguis-hominis</i>	99	EU930010.1
4436	0	HM	HM-TER1A-1B-18	<i>Pyrenochaeta unguis-hominis</i>	99	EU930010.1
4521	0	HM	HM-TER1B-1B-18	<i>Pyrenochaeta unguis-hominis</i>	99	EU930010.1
4710	0	HM	HM-TER2A-1A-02	<i>Pyrenochaeta unguis-hominis</i>	100	EU930010.1
4779	0	HM	HM-TER2A-3B-05	<i>Stemphylium solani</i>	99	AF203450.1

*Notas: Id General, número de identificación de la cepa; Termofilia: 0 mesófilo, 1 termotolerante mesófilo, 2 termotolerante termófilo, 3 termófilo; Programa, programa de aislamiento, HM-hongos mesófilos, HT-hongos termófilos; Cepa tipo, nomenclatura de la primera cepa aislada en el proceso (ver Material y Métodos, apartado 3.1); Identidad, especie o género con el que la secuencia de la cepa es más similar; % Identidad, las cepas cuya secuencia tiene una homología (% Identidad) con la depositada en el Genbank NCBI inferior al 95% pueden ser catalogadas sólo a nivel de género; No. Acceso, número de acceso en el GenBank NCBI de la secuencia con la que se obtuvo la homología de cada cepa.

Tabla 7b. Abundancia de las especies de la clase Dothideomycetes durante el compostaje*.

Identidad	Muestreo																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Alternaria alternata</i>			0,7	3,7	0,1		1,5												
<i>Alternaria brassicae</i>	0,2						0,7				0,6								
<i>Cladosporium cladosporioides</i>											0,6								
<i>Cladosporium lignicola</i>		2,1	2,1	2,5	1,9	1,9	1,5		0,5	1,2									
<i>Davidiella tassiana</i>	1,7	1,5	0,7	1,7	0,1	6,7	3,6			0,6									
<i>Ochrocladosporium frigidarii</i>						1,0			0,5	0,6		2,0	3,4	1,9	2,5	2,0	0,7		
<i>Preussia australis</i>										0,6									
<i>Pyrenochaeta sp.</i>		1,0																	
<i>Pyrenochaeta unguis-hominis</i>	1,1	5,6	1,0	0,2		3,8	2,2			0,9	0,6								
<i>Stemphylium solani</i>							0,4												

*Notas: Se indica la abundancia como el porcentaje respecto al recuento total de hongos. Muestreos realizados durante el proceso de compostaje (ver Material y Métodos, Tabla 5).

La clase Dothideomycetes es la mayor y mas diversa de las clases de hongos ascomicetos, incluyendo 11 órdenes, 1300 géneros y alrededor de 19000 especies conocidas (Kirk et al., 2008; Schoch et al., 2009). Una de las características más relevante de la clase es la presencia de ascas bitunicadas o bicapa.

En las Figuras 8a a 8g se muestran las características fenotípicas macro y microscópicas de las 20 cepas pertenecientes a esta clase.

Las tres cepas del género *Cladosporium* presentaron un micelio marrón verdoso con aspecto similar en cualquiera de los tres medios de cultivo empleados (Figura 8a). Dichas cepas presentaron una gran cantidad de ascosporas, muy parecidas entre ellas, aunque no fue posible observar ninguna asca íntegra.

En el caso de las tres cepas pertenecientes a las especie *Davidiella tassiana*, el micelio, también marrón verdoso, presentó sensibles diferencias en los tres medios utilizados Figura 8b), y fue mucho menos invasivo que en *Cladosporium*. En este caso el número de ascosporas fue escaso.

Las cinco cepas correspondientes al género *Alternaria* presentaron notables diferencias morfológicas, tanto micro, como macroscópicas (Figuras 8c y 8d), incluso entre cepas de la misma especie. El color del micelio fue marrón o marrón-verdoso en *Alternaria alternata* (Figura 8c) y *Alternaria brassicae* y blanco en *Alternaria tenuissima* (Figura 8d). Destaca la presencia de borde blanquecino de las colonias de las dos primeras especies y el tamaño reducido de las colonias de la última. En todos los casos se detectaron sensibles diferencias en el crecimiento del hongo en los tres medios empleados, pero éstas fueron especialmente importantes en el caso de *A. brassicae*, que presentó micelio blanquecino en agar extracto de malta (AEM) y marrón-verdoso en los otros dos medios. Estas diferencias también se presentaron a nivel microscópico. En el caso de *A. alternata* se observaron ascas muy características.

La cepa de *Ochrocladosporium frigidarii* colonizó casi toda la placa con un micelio verde oscuro (Figura 8d). Por el contrario, *Preussia australis* exhibió un pobre crecimiento y con amplias diferencias morfológicas en los tres medios de cultivo (Figura 8e). Esto último ocurrió también en el caso de *Pyrenochaeta* (Figura 8e y 8f).

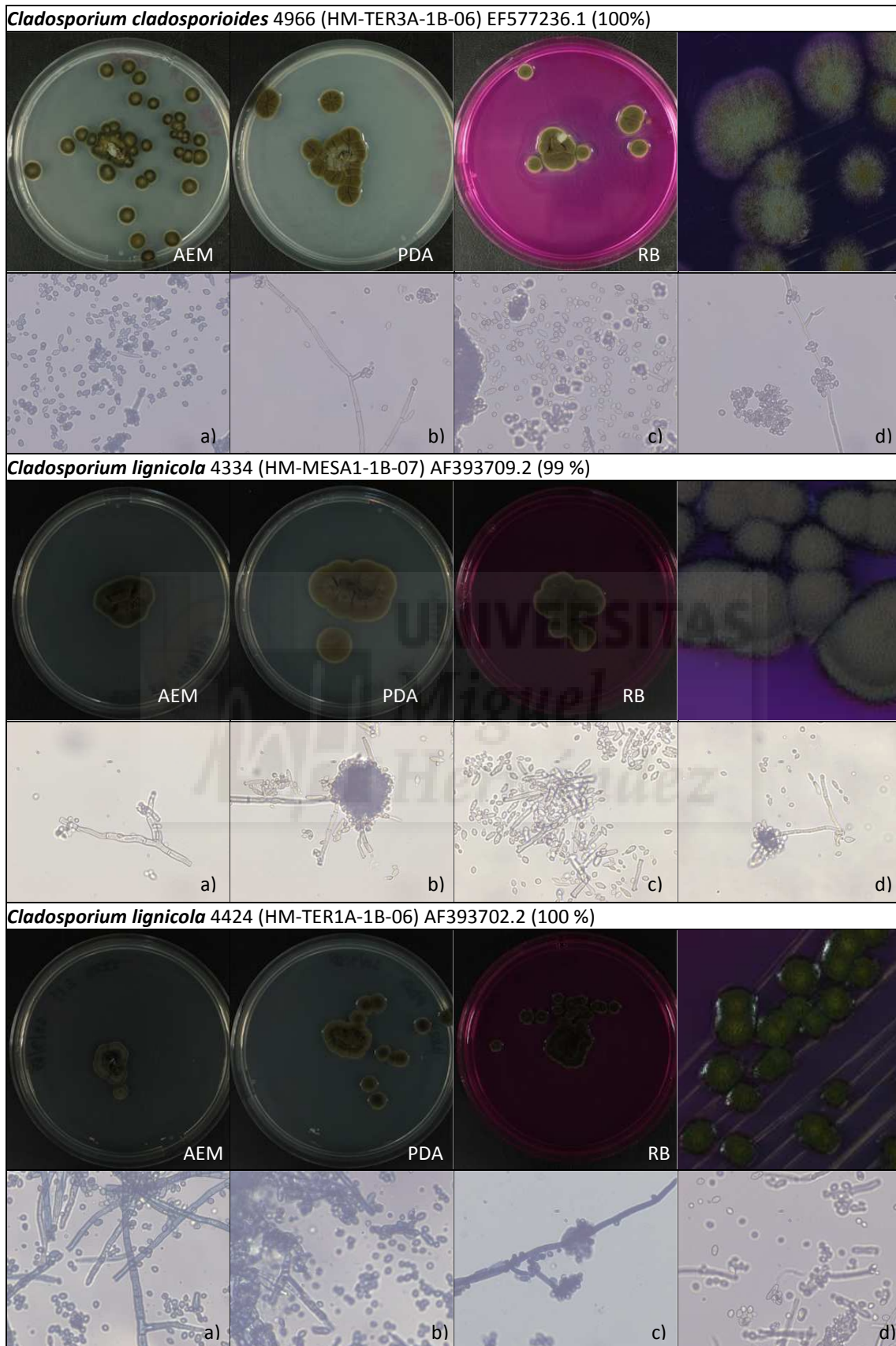


Figura 8a. Fenotipo de especies de la Clase Dothideomycetes, Orden Capnodiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

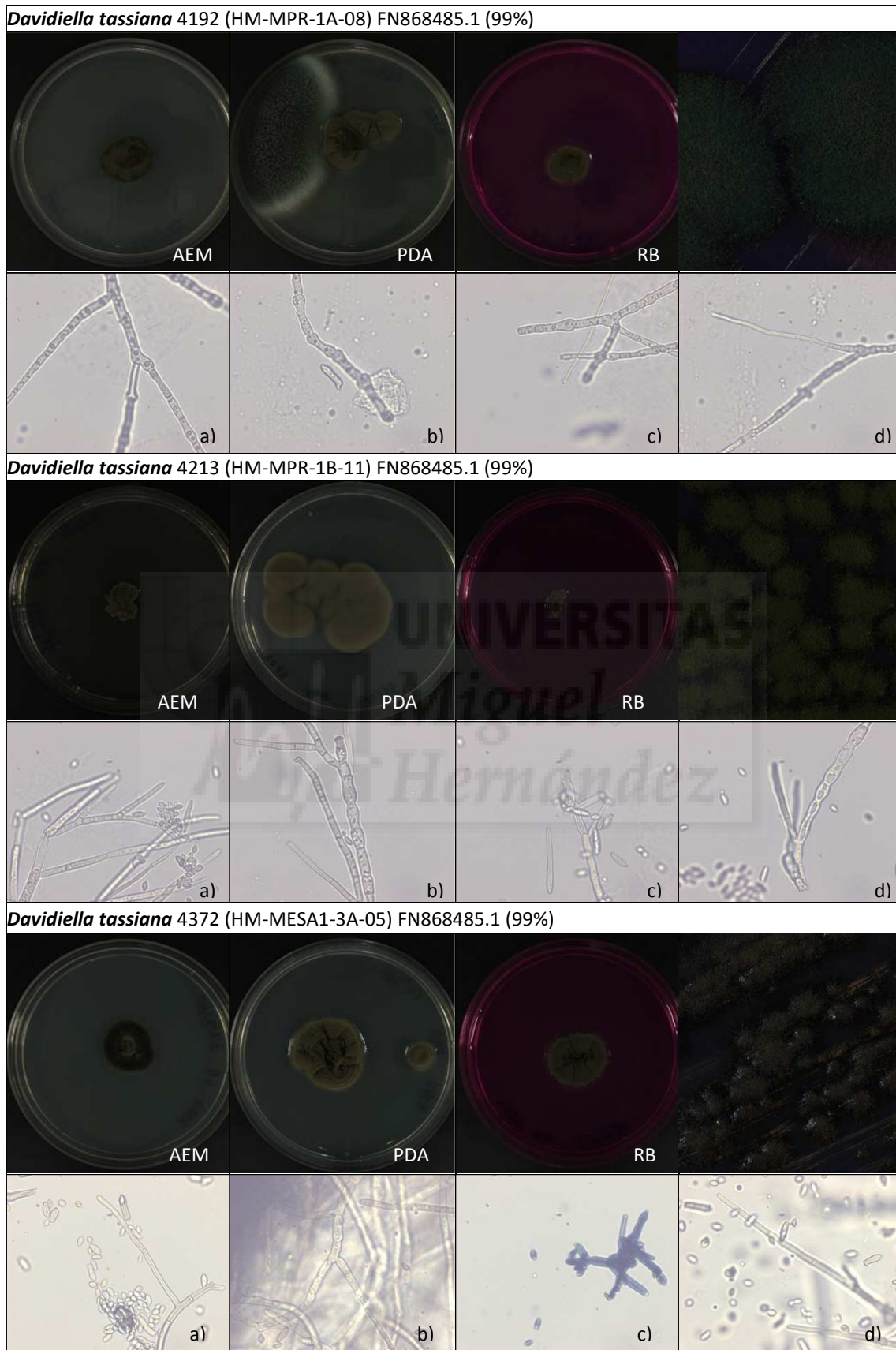


Figura 8b. Fenotipo de especies de la Clase Dothideomycetes, Orden Capnariales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

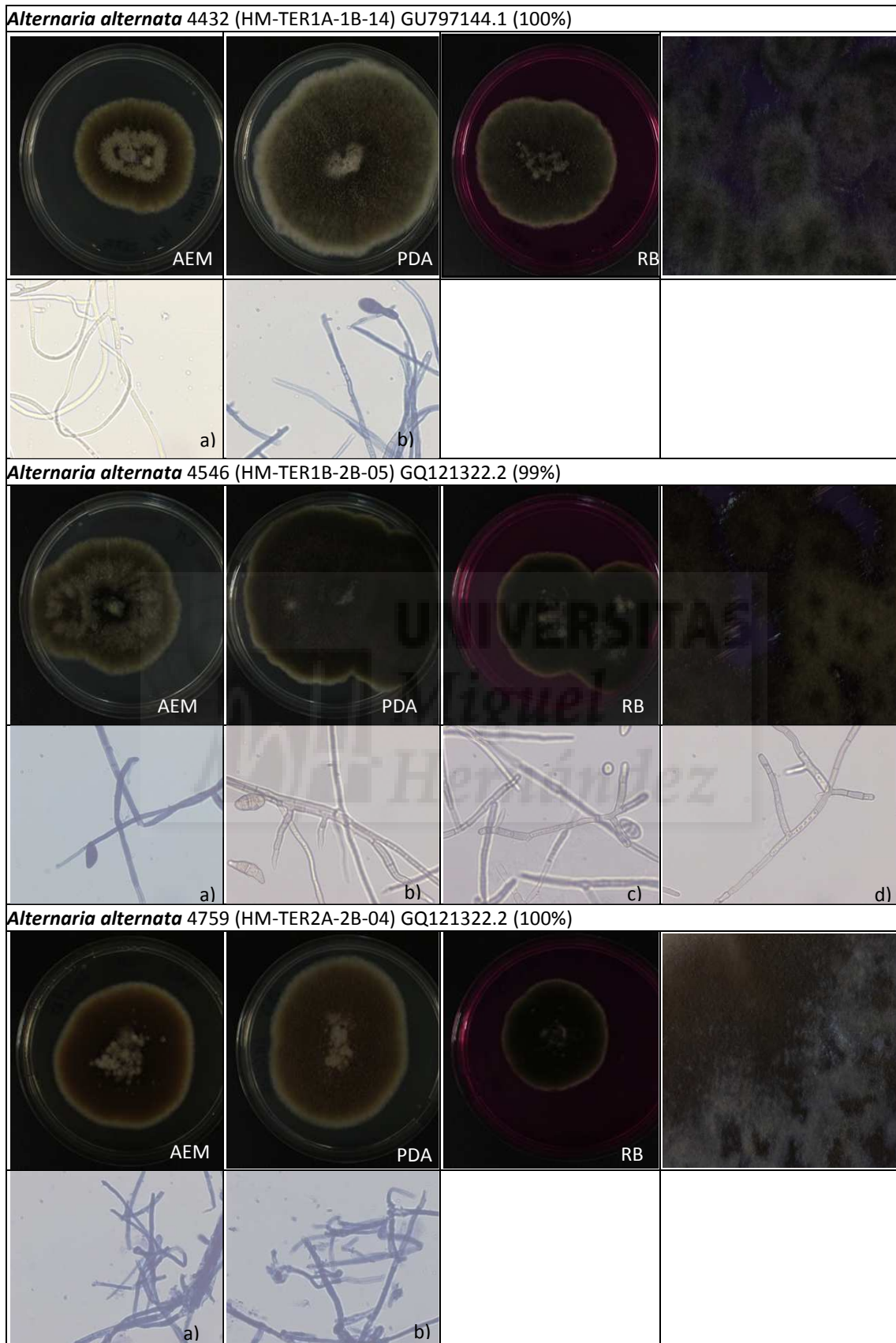


Figura 8c. Fenotipo de especies de la Clase Dothideomycetes, Orden Pleosporales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

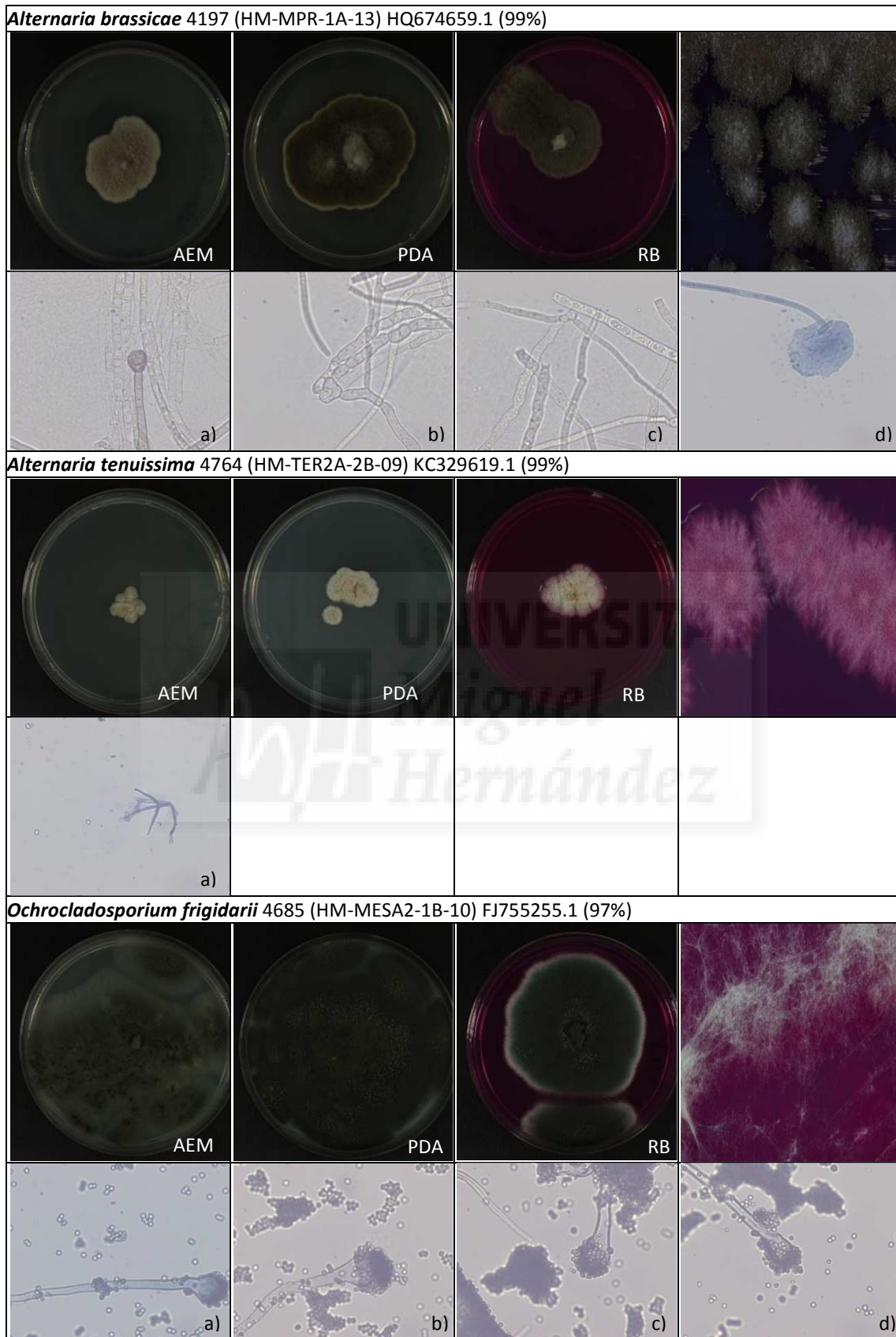


Figura 8d. Fenotipo de especies de la Clase Dothideomycetes, Orden Pleosporales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

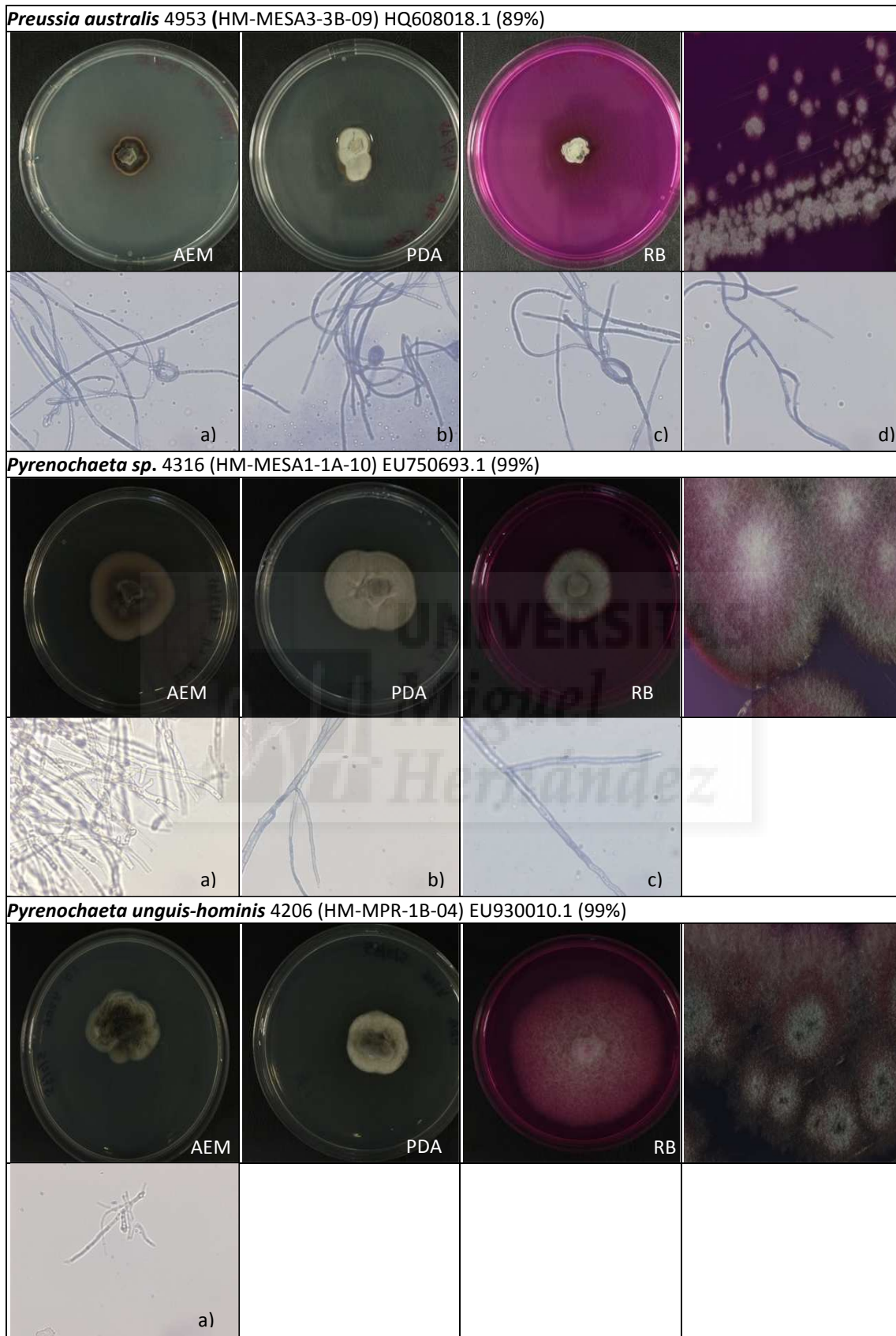


Figura 8e. Fenotipo de especies de la Clase Dothideomycetes, Orden Pleosporales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

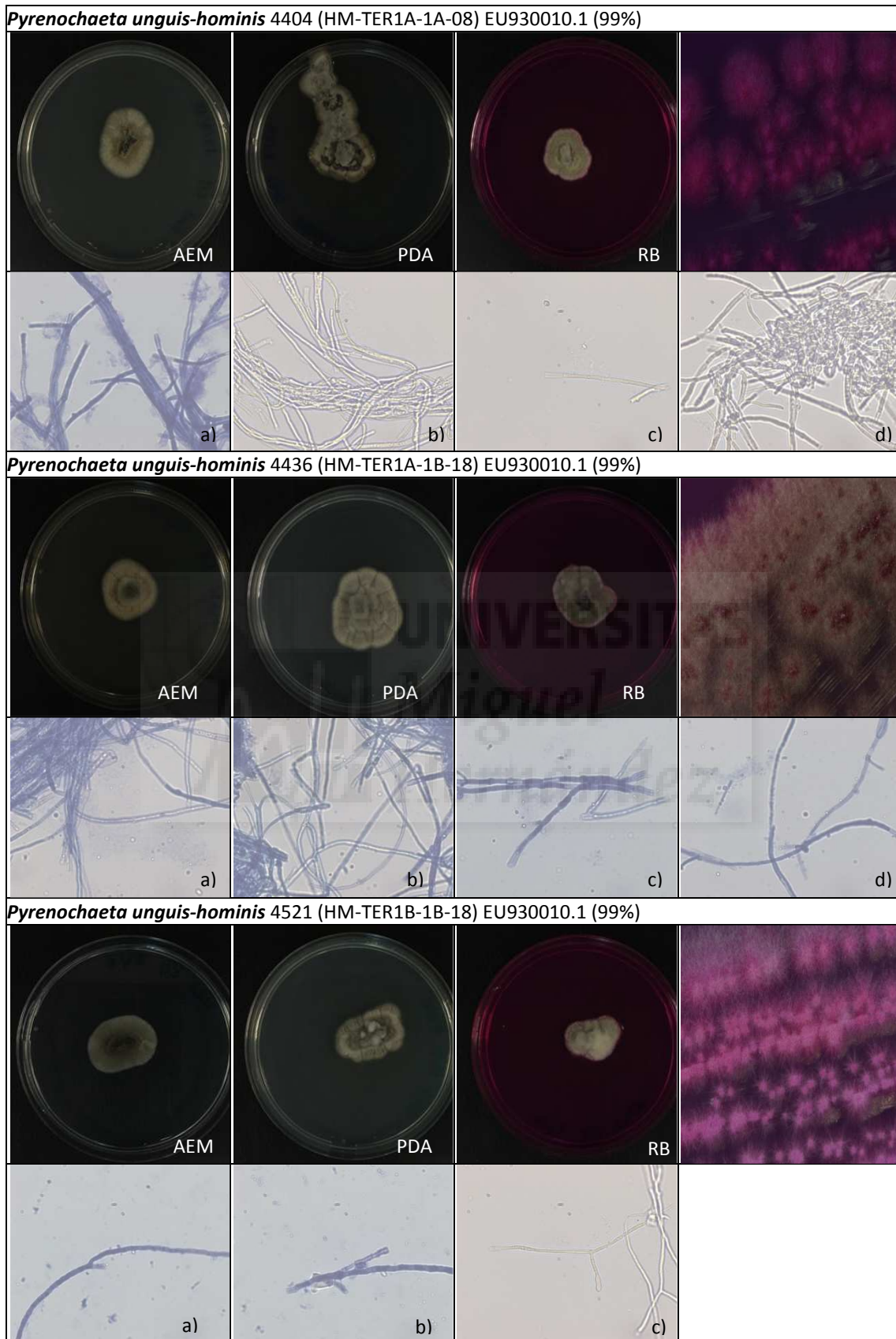


Figura 8f. Fenotipo de especies de la Clase Dothideomycetes, Orden Pleosporales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

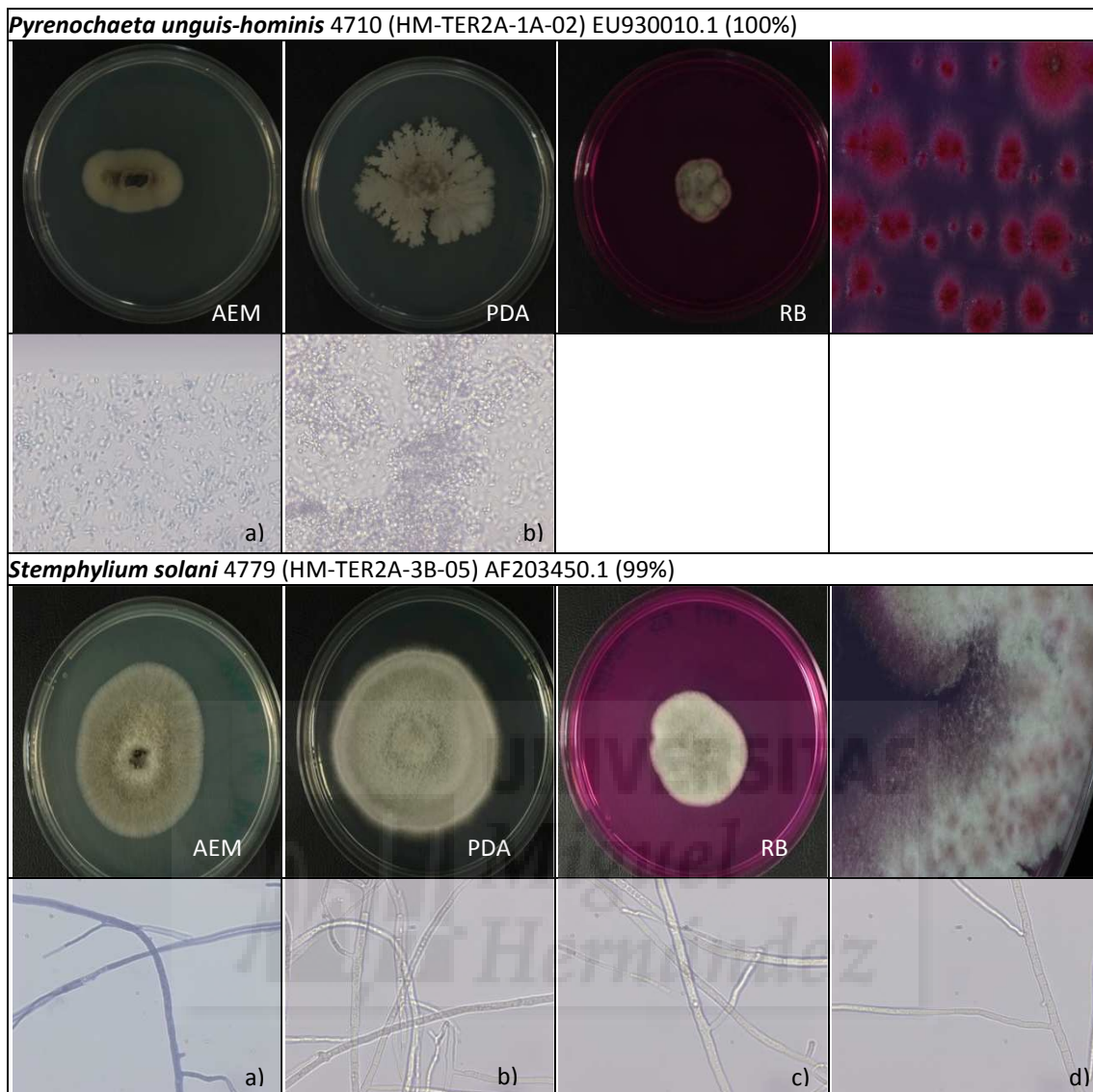


Figura 8g. Fenotipo de especies de la Clase Dothideomycetes, Orden Pleosporales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

4.1.2. Phylum Ascomycota: Clase Eurotiomycetes

La clase Eurotiomycetes incluyó 81 cepas, todas pertenecientes al orden Eurotiales (Tabla 8a). Cuatro géneros estuvieron presentes entre los aislados, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Thermomyces*, *Emericella* y *Talaromyces*. Los dos primeros géneros se encuentran entre los hongos más frecuentemente detectados durante el proceso, tal y como se indicó previamente. Así, 45 cepas pertenecieron a 4 especies del género *Aspergillus*, *A. fumigatus*, *A. flavipes*, *A. ostianus* y *A. terreus*, aunque la gran mayoría de cepas (41) pertenecieron a la primera especie. Las 26 cepas del

género *Penicillium* se incluyeron en 12 especies, siendo mayoritaria *P. spinulosum* con 11 representantes. En los géneros *Thermomyces*, *Emericella* y *Talaromyces* se incluyeron 7, 1 y 1 cepa, respectivamente de una especie.

Las especies *A. fumigatus*, *P. spinulosum* y *Emericella rugulosa* fueron las más abundantes y frecuentemente detectadas durante el proceso (Tabla 8b).

Tabla 8a. Hongos de la clase Eurotiomycetes, orden Eurotiales identificados*.

Id General	Termofilia	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
5351	0	HM	HM-PRF-3B-08	<i>Aspergillus flavipes</i>	100	EF669588.1
4255	1	HM	HM-MPR-2B-09	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566217.1
4390	1	HM	HM-MESA1-3B-07	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
4448	1	HM	HM-TER1A-2A-08	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
4449	1	HM	HM-TER1A-2A-09	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
4450	1	HM	HM-TER1A-2A-10	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566242.1
4494	1	HM	HM-TER1B-1A-07	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566242.1
4500	1	HM	HM-TER1B-1A-13	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566242.1
4517	0	HM	HM-TER1B-1B-14	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566242.1
4586	1	HM	HM-TER1B-3B-12	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566242.1
4589	1	HM	HM-TER1B-3B-15	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566242.1
4595	0	HM	HM-MESD1-1A-02	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566242.1
4599	1	HM	HM-MESD1-1A-06	<i>Aspergillus fumigatus</i>	98	KC492453.1
4614	1	HM	HM-MESD1-1B-06	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
4616	1	HM	HM-MESD1-1B-08	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	JX501382.1
4620	1	HM	HM-MESD1-1B-12	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566242.1
4628	1	HM	HM-MESD1-2A-06	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566217.1
4644	1	HM	HM-MESD1-2B-05	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566242.1
4649	1	HM	HM-MESD1-2B-10	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	HF677588.1
4941	0	HM	HM-MESA3-3A-06	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566242.1
4951	1	HM	HM-MESA3-3B-07	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
5081	1	HM	HM-MESA4-2B-04	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
5329	0	HM	HM-PRF-2A-04	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566217.1
5356	1	HT	HT-MPR-2B-01	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566242.1
5360	1	HT	HT-MESA1-1A-01	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	HQ026746.1
5379	1	HT	HT-MESD1-1A-03	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566217.1
5383	1	HT	HT-MESD1-2A-01	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
5395	1	HT	HT-MESD1-2B-06	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
5437	1	HT	HT-TER2B-1A-01	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
5456	1	HT	HT-MESD2-1A-02	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
5521	1	HT	HT-MESA3-2A-05	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566217.1
5544	1	HT	HT-MESA3-2B-14	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566217.1
5549	1	HT	HT-MESA3-3A-05	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	JN851039.1
5578	1	HT	HT-TER3A-1A-02	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
5657	1	HT	HT-MES6-1A-01	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.1
5710	1	HT	HT-MAD1-1A-01	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	KC461558.1
5716	1	HT	HT-MAD1-1B-03	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566217.1
5719	1	HT	HT-MAD1-2A-01	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566242.1
5731	3	HT	HT-MAD2-1A-02	<i>Aspergillus fumigatus</i>	98	KC167854.1
5736	1	HT	HT-MAD2-2A-03	<i>Aspergillus fumigatus</i>	99	GU566217.2
5744	1	HT	HT-MAD2-2B-04	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	JX501382.1
5745	1	HT	HT-MAD2-3A-01	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	GU566217.2
4361	0	HM	HM-MESA1-2B-08	<i>Aspergillus ostianus</i>	99	FJ478090.1
4739	0	HM	HM-TER2A-1B-13	<i>Aspergillus terreus</i>	99	KC119206.1
4496	0	HM	HM-TER1B-1A-09	<i>Emericella rugulosa</i>	100	EU289916.1
5216	0	HM	HM-MES7-1B-06	<i>Emericella rugulosa</i>	99	EU289916.1
4311	0	HM	HM-MESA1-1A-05	<i>Penicillium brevicompactum</i>	100	AB479306.1
4231	0	HM	HM-MPR-2A-11	<i>Penicillium chrysogenum</i>	99	HQ026745.1
4230	0	HM	HM-MPR-2A-10	<i>Penicillium commune</i>	100	GQ458026.1
4339	0	HM	HM-MESA1-1B-12	<i>Penicillium coprophilum</i>	97	JN226975.1
4717	0	HM	HM-TER2A-1A-09	<i>Penicillium dipodomycola</i>	100	GQ161752.1

Id General	Termofilia	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
4743	0	HM	HM-TER2A-1B-17	<i>Penicillium dipodomycola</i>	100	GQ161752.1
4783	0	HM	HM-TER2B-1A-01	<i>Penicillium dipodomycola</i>	99	GQ161752.1
4801	0	HM	HM-TER2B-2A-09	<i>Penicillium dipodomycola</i>	99	GQ161752.1
5128	0	HM	HM-MES5-2A-05	<i>Penicillium dipodomycola</i>	100	GQ161752.1
5214	0	HM	HM-MES7-1B-04	<i>Penicillium lapidosum</i>	99	KC966732.1
4878	0	HM	HM-MESD2-3A-04	<i>Penicillium polonicum</i>	99	JQ082508.1
5207	0	HM	HM-MES7-1A-06	<i>Penicillium polonicum</i>	100	GU566221.1
4237	0	HM	HM-MPR-2A-17	<i>Penicillium solitum</i>	99	JN642222.1
4915	0	HM	HM-MESA3-1B-09	<i>Penicillium solitum</i>	99	JN642222.1
4190	0	HM	HM-MPR-1A-06	<i>Penicillium spinulosum</i>	99	HQ608158.1
4201	0	HM	HM-MPR-1A-17	<i>Penicillium spinulosum</i>	100	HQ608158.1
4217	0	HM	HM-MPR-1B-15	<i>Penicillium spinulosum</i>	99	GU566252.1
4220	0	HM	HM-MPR-1B-18	<i>Penicillium spinulosum</i>	100	HQ608158.1
4229	0	HM	HM-MPR-2A-09	<i>Penicillium spinulosum</i>	99	GU566252.1
4233	0	HM	HM-MPR-2A-13	<i>Penicillium spinulosum</i>	99	GU566252.1
4268	0	HM	HM-MPR-2B-22	<i>Penicillium spinulosum</i>	99	HQ608158.1
4281	0	HM	HM-MPR-3A-13	<i>Penicillium spinulosum</i>	100	HQ608158.1
4293	0	HM	HM-MPR-3B-07	<i>Penicillium spinulosum</i>	99	GU566252.1
4323	0	HM	HM-MESA1-1A-17	<i>Penicillium spinulosum</i>	99	GU566252.1
4650	0	HM	HM-MESD1-2B-11	<i>Penicillium spinulosum</i>	99	GU566252.1
5240	0	HM	HM-MES7-3A-07	<i>Penicillium steckii</i>	96	DQ682594.1
5400	1	HT	HT-MESD1-3A-04	<i>Talaromyces thermophilus</i>	99	JF412001.1
5361	1	HT	HT-MESA1-1B-01	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	99	JF412006.1
5363	1	HT	HT-MESA1-2B-02	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	99	JF412006.1
5373	1	HT	HT-TER1B-3A-02	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	99	JF412006.1
5404	3	HT	HT-MESD1-3B-01	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	99	JF412006.1
5465	1	HT	HT-MESD2-1A-11	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	99	GU441538.1
5718	1	HT	HT-MAD1-1B-05	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	98	KC342032.1
5722	1	HT	HT-MAD1-2B-02	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	99	AB085929.1

*Notas: Id General, número de identificación de la cepa; Termofilia: 0 mesófilo, 1 termotolerante mesófilo, 2 termotolerante termófilo, 3 termófilo; Programa, programa de aislamiento, HM-hongos mesófilos, HT-hongos termófilos; Cepa tipo, nomenclatura de la primera cepa aislada en el proceso (ver Material y Métodos, apartado 3.1); Identidad, especie o género con el que la secuencia de la cepa es más similar; % Identidad, las cepas cuya secuencia tiene una homología (% Identidad) con la depositada en el Genbank NCBI inferior al 95% pueden ser catalogadas sólo a nivel de género; No. Acceso, número de acceso en el GenBank NCBI de la secuencia con la que se obtuvo la homología de cada cepa.

Tabla 8b. Abundancia de las especies de la clase Eurotiomycetes durante el compostaje*

Identidad	MUESTREO																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Aspergillus flavipes</i>																			0,8
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,2	1,5	1,0	2,3	15,6	1,0	5,0	6,8	4,6	4,3	1,3	2,0	0,7		0,1	2,2	2,4	2,1	1,7
<i>Aspergillus ostianus</i>		1,0		0,2			0,4										1,1	2,5	
<i>Aspergillus terreus</i>							0,4		2,0	0,3									
<i>Emericella rugulosa</i>				1,0	0,4		1,1		1,0		0,6		1,0		1,0	0,2	1,1		
<i>Penicillium brevicompactum</i>		1,0																	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0,6							0,5											
<i>Penicillium citrinum</i>															1,0				
<i>Penicillium commune</i>	0,9																	0,1	
<i>Penicillium coprophilum</i>		2,1																	
<i>Penicillium duponti</i>											0,1								
<i>Penicillium dupontii</i>					0,0														
<i>Penicillium griseofulvum</i>							1,1	5,7	1,5			1,2	5,8	0,9			0,1		
<i>Penicillium lapidosum</i>																1,0			
<i>Penicillium polonicum</i>									1,0		3,1	0,2			1,0				
<i>Penicillium solitum</i>	2,4		3,8	0,5	0,3		0,7			1,2									
<i>Penicillium spinulosum</i>	6,2	4,6	2,1	0,5	1,4		0,4						1,0				1,1		0,8
<i>Thermomyces lanuginosus</i>		0,0		0,0	0,1		0,1	0,0	0,0		0,0					0,3	0,6		0,0

*Notas: Se indica la abundancia como el porcentaje respecto al recuento total de hongos. Muestréos realizados durante el proceso de compostaje (ver Material y Métodos, Tabla 5).

En las Figuras 9a a 9aa se muestran los morfotipos coloniales y microscópicos de las cepas pertenecientes a esta clase.

La especie mayoritaria fue *Aspergillus fumigatus*, y a ella se adscribieron 41 cepas. Las colonias de esta especie mostraron generalmente color verdoso, y en la mayoría de las cepas con borde de crecimiento blanco (Figuras 9a-n). Muy pocas cepas tuvieron micelio blanco, pero bastantes presentaron un aspecto marrón-verdoso diferente al mostrado por el resto de cepas pertenecientes a la especie, tal fue el caso de *A. fumigatus* 4517 y 4628 (Figura 9c y f, respectivamente). Además, en estos últimos casos existió una amplia diferencia en el aspecto del hongo crecido en cada uno de los tres medios ensayados, no así en las cepas que presentaron el micelio de color verde homogéneo. En general se puede decir que el fenotipo macroscópico de *A. fumigatus* es bastante heterogéneo. En las observaciones al microscopio, prácticamente en todos los casos se detectó el conidióforo redondeado típico del género, ubicado al final de las hifas tabicadas. Las esporas o conidios se liberan a partir de dicha estructura.

Las otras tres especies del género, *A. flavipes*, *A. ostianus* y *A. terreus* presentaron también dichas estructuras y su micelio fue del blanco al marrón (Figuras 9a y 9o).

Las dos cepas de *Emericella rugosa* mostraron un fenotipo macroscópico diferente entre sí, una tuvo coloración verdosa y otra blanca (Figura 9o-p).

Las numerosas cepas pertenecientes al género *Penicillium*, 26 cepas, mostraron en la mayoría de los casos los típicos conidióforos, más o menos ramificados, del género, con los conidios alineados. La mayoría de las cepas de este género tuvieron micelio verdoso, aunque bastantes fueron blancas (Figura 9p-y).

Las dos especies del género *Talaromyces*, *T. thermophilus* y *T. lanuginosus* tuvieron micelio blanquecino que presentó importantes diferencias entre los tres medios de cultivo (Figura 9y). De igual forma, las cepas identificadas como *Thermomyces lanuginosus* presentaron diferencias de crecimiento en los tres medios ensayados, observándose también ciertas variaciones morfológicas entre distintas cepas de la especie (Figuras 9z-aa).

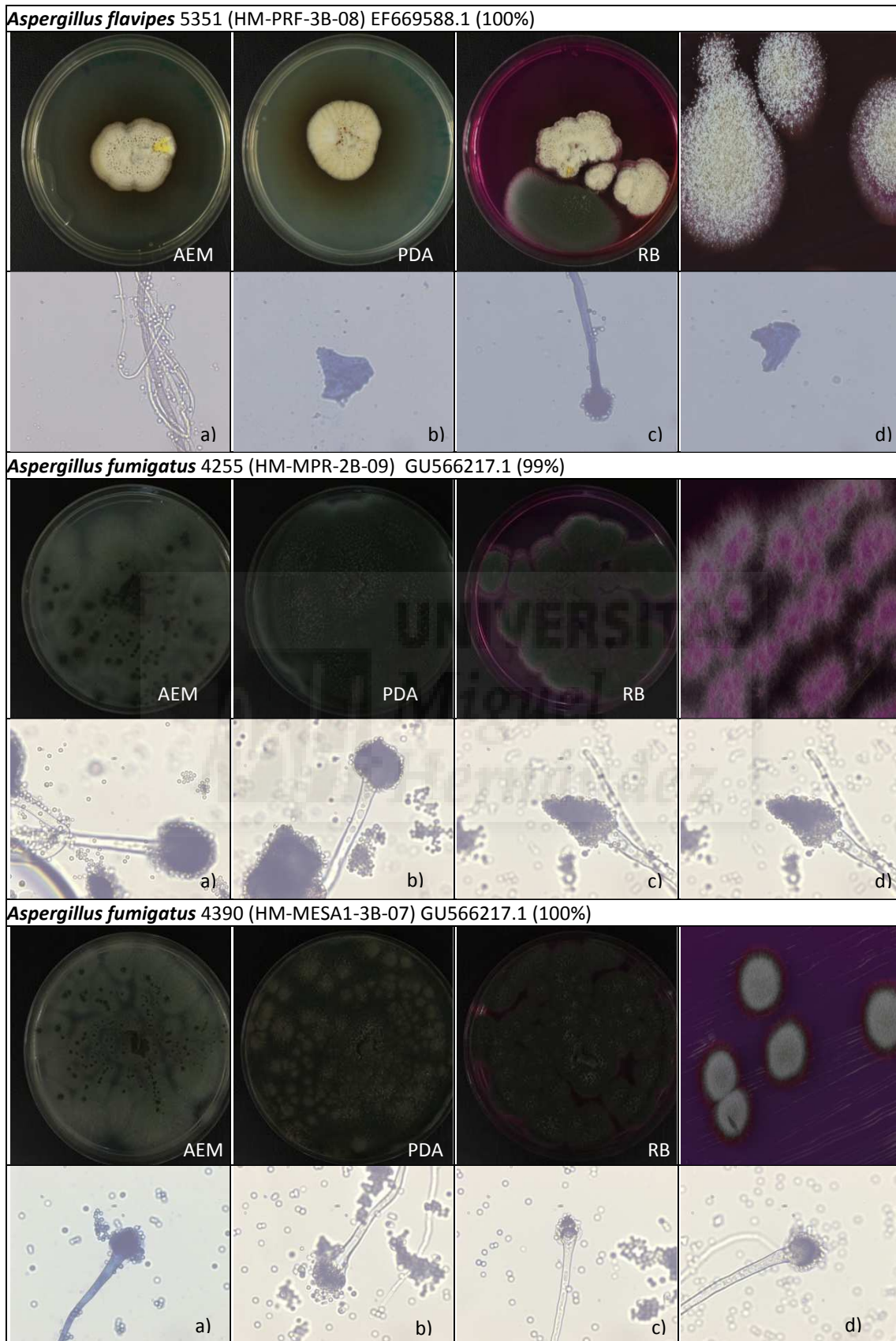


Figura 9a. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

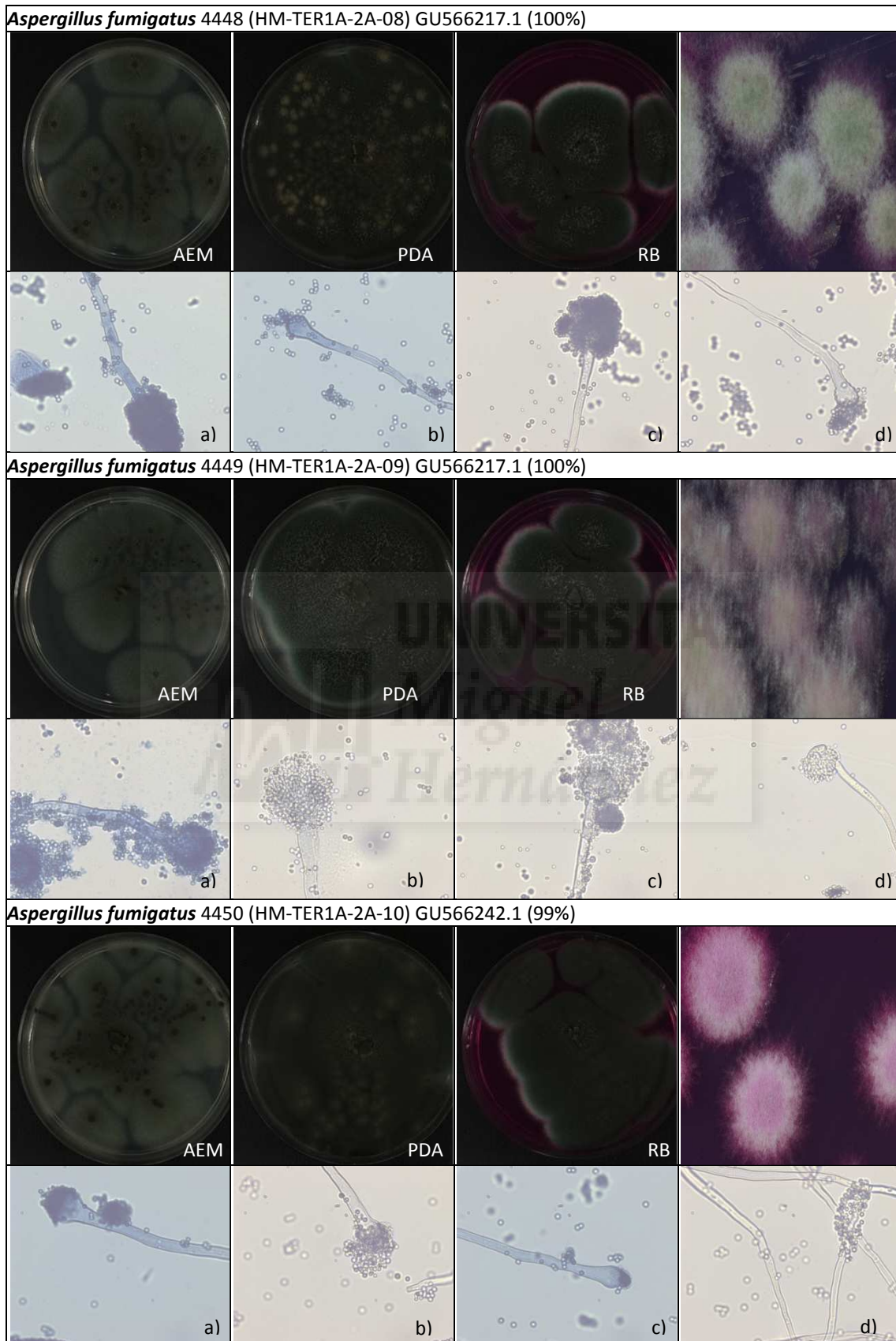


Figura 9b. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

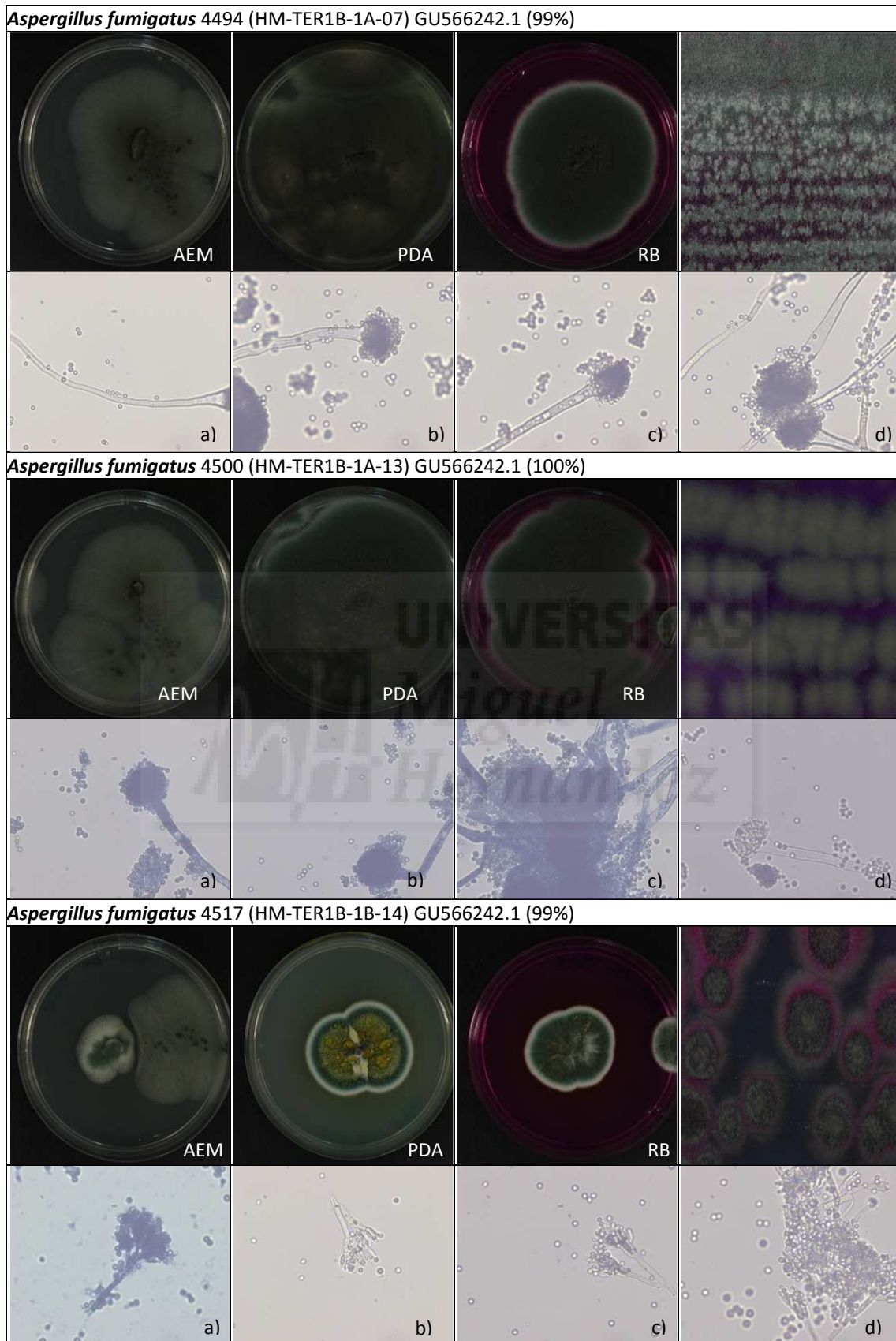


Figura 9c. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

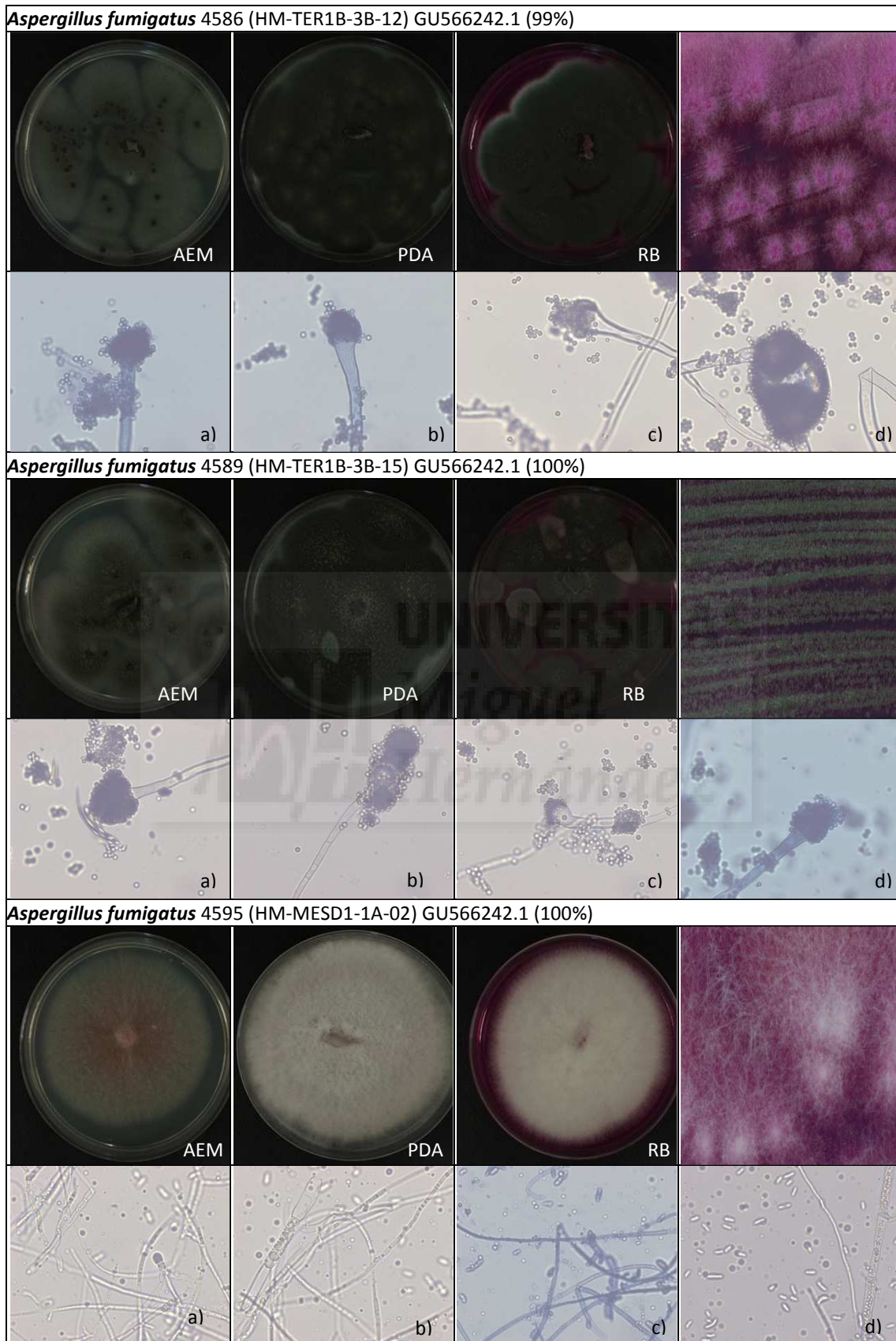


Figura 9d. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

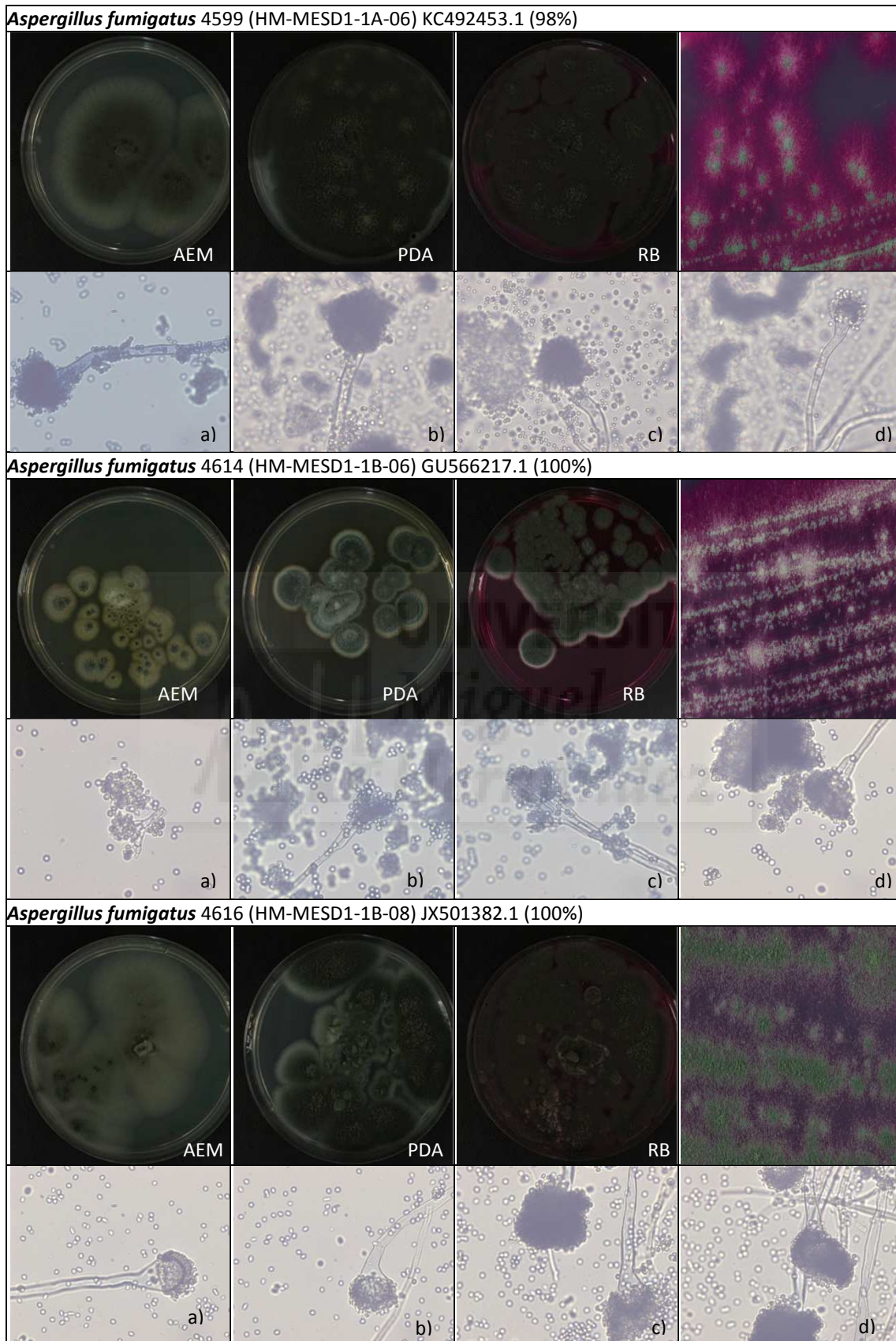


Figura 9e. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

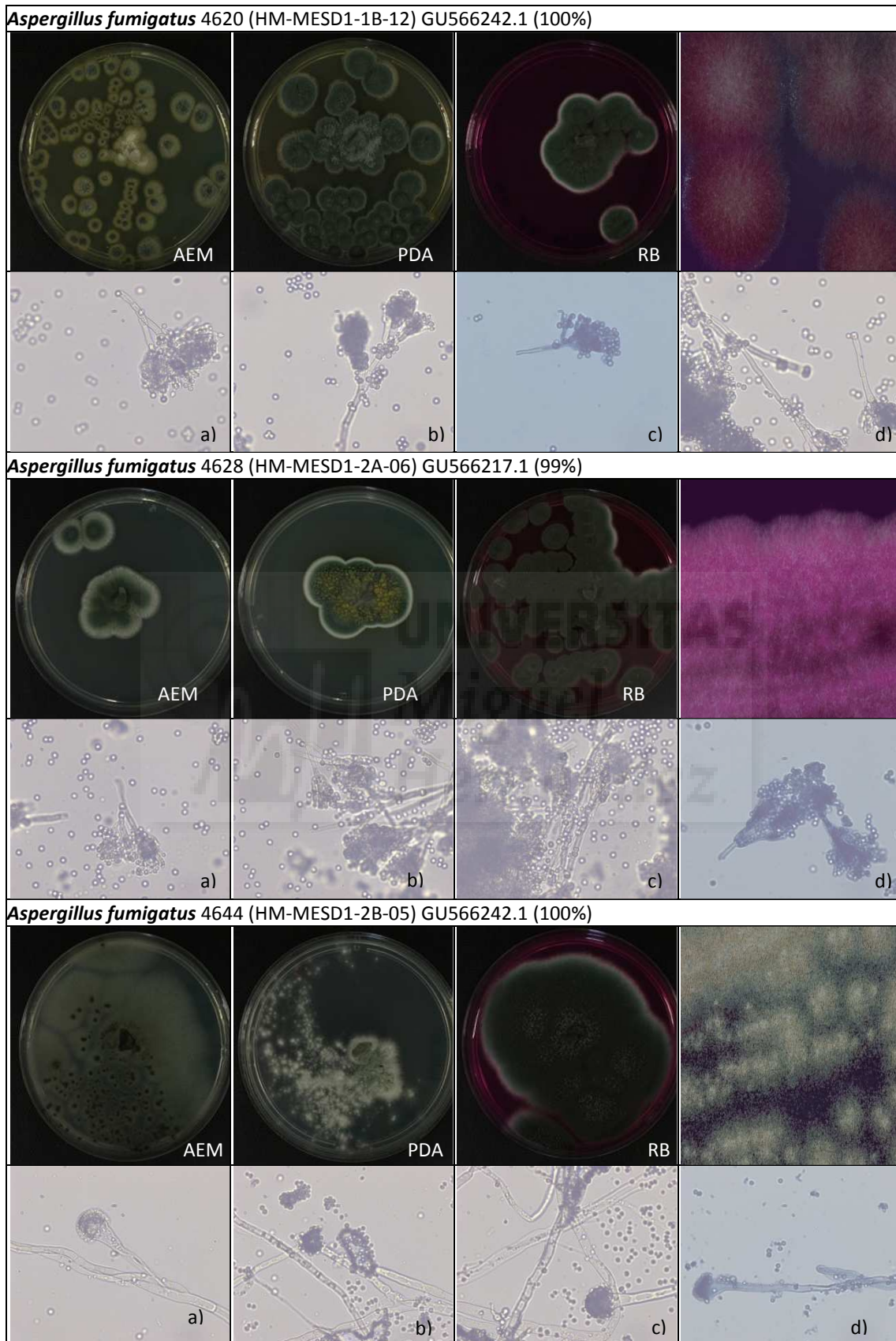


Figura 9f. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

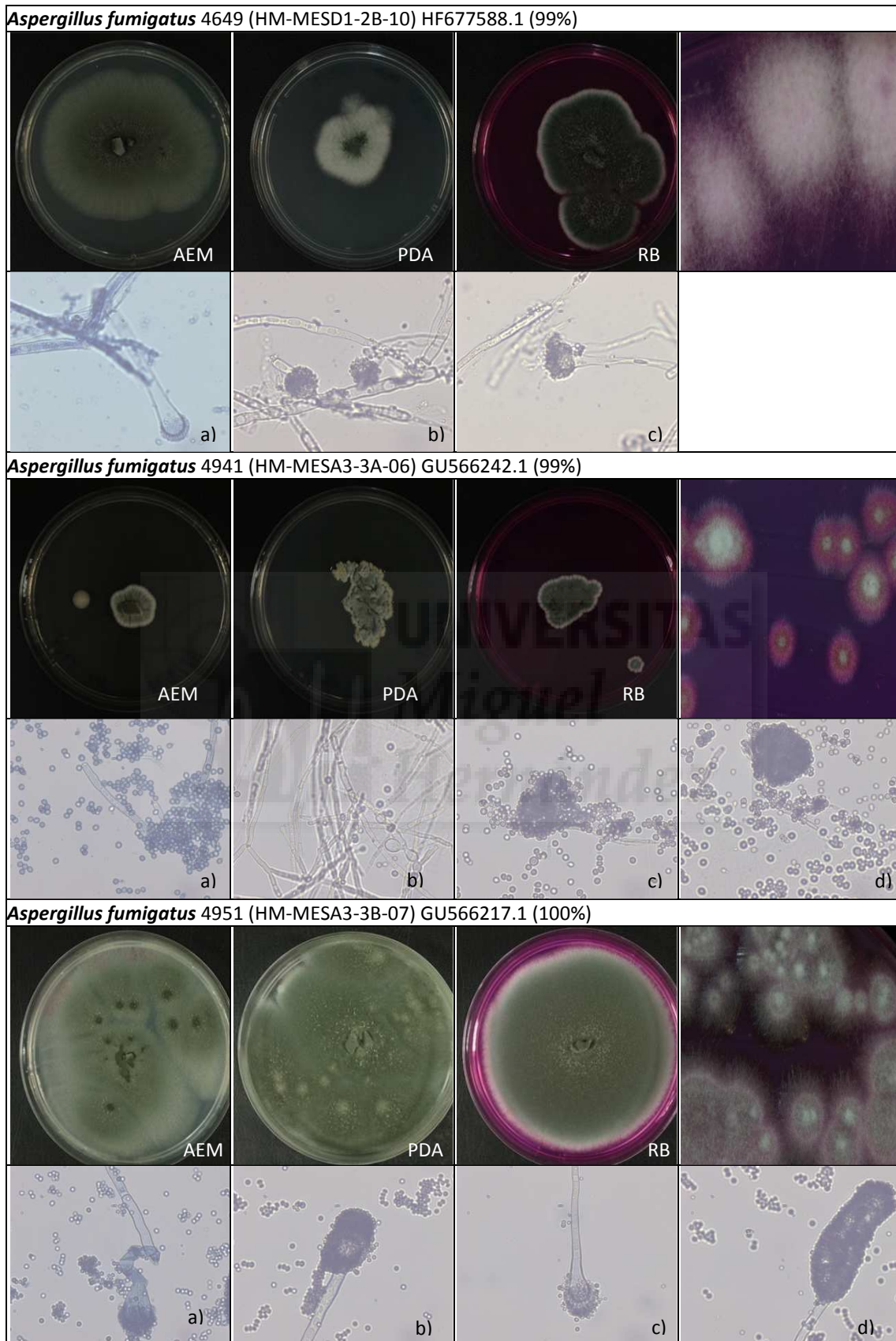


Figura 9g. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

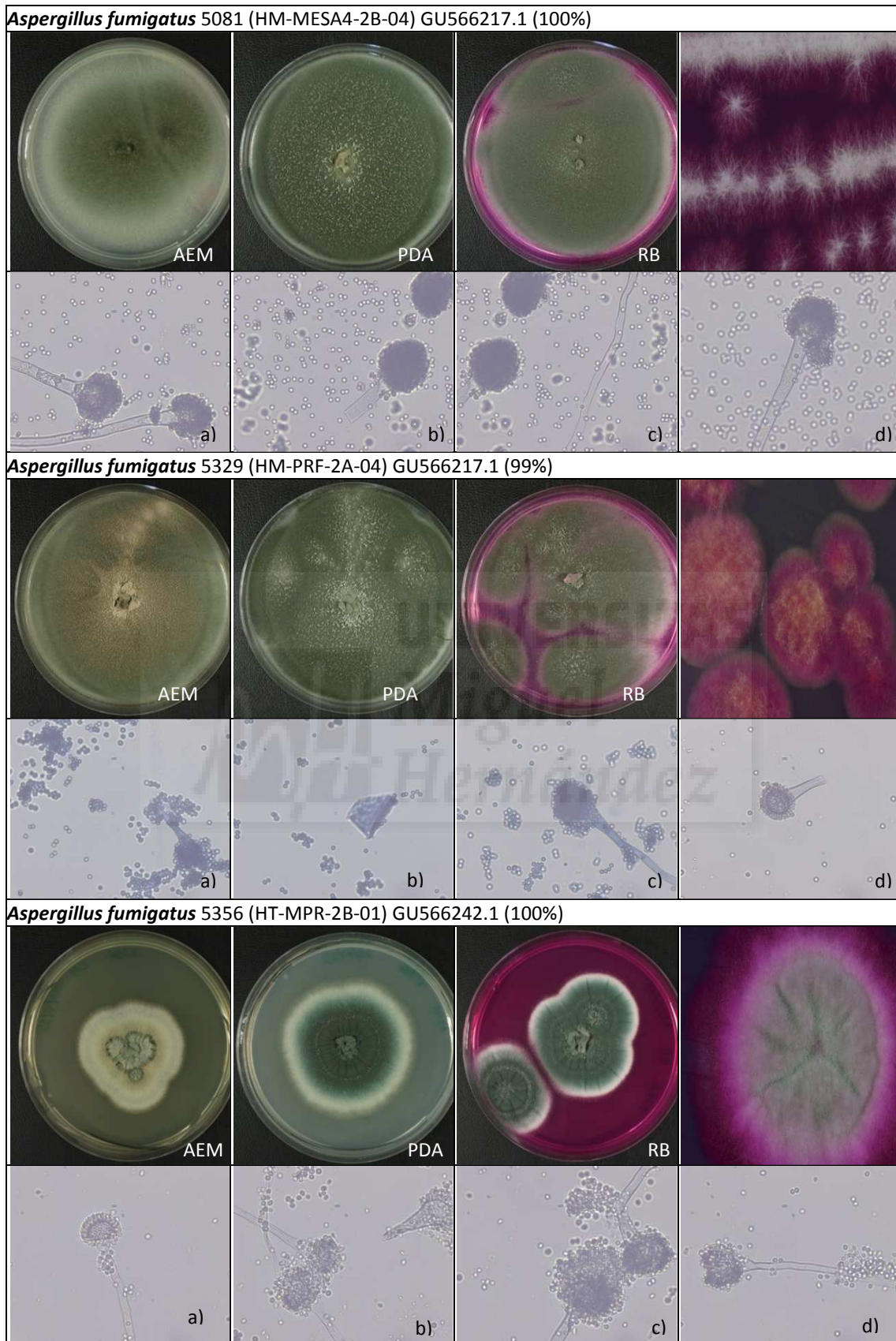


Figura 9h. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

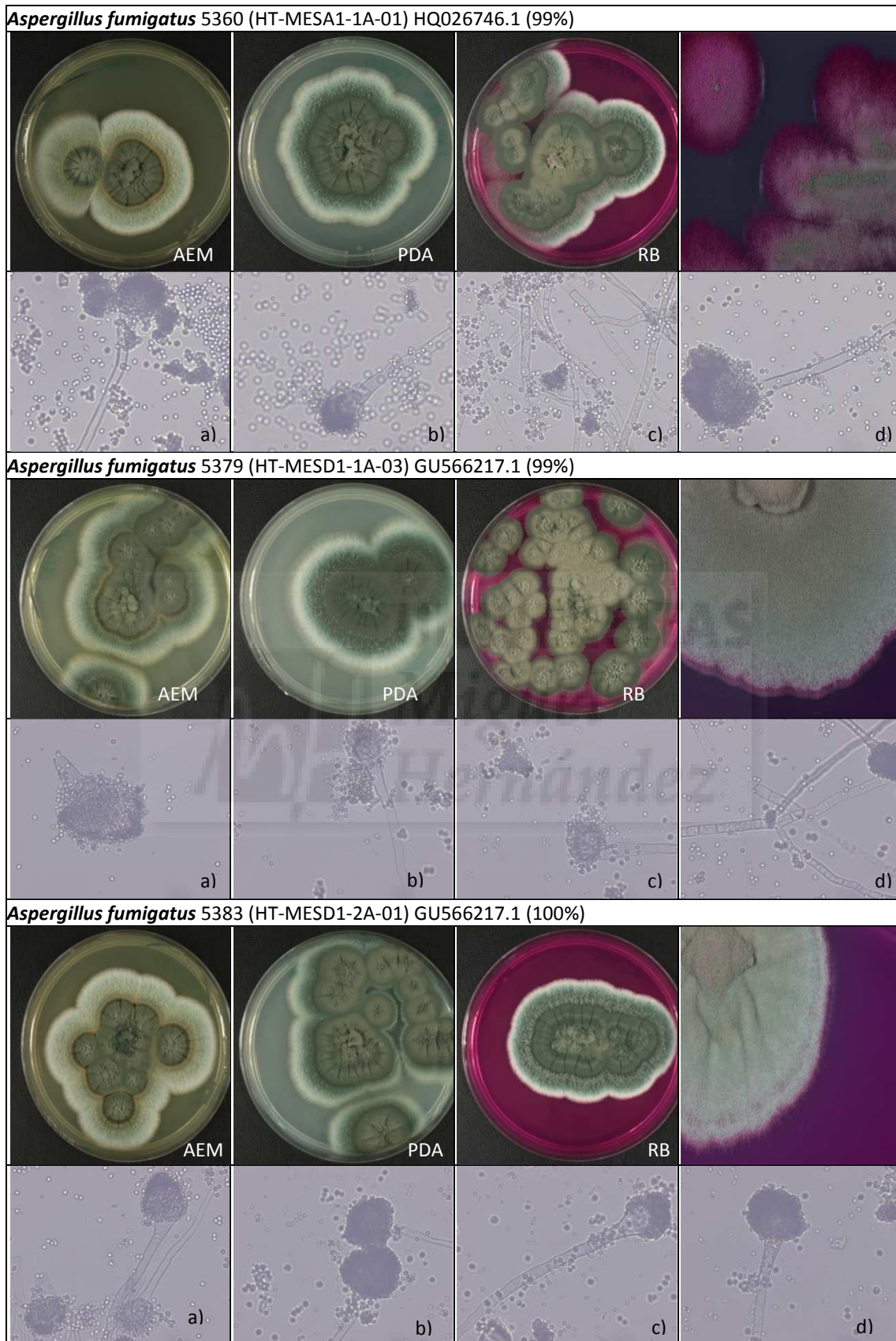


Figura 9i. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).



Figura 9j. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

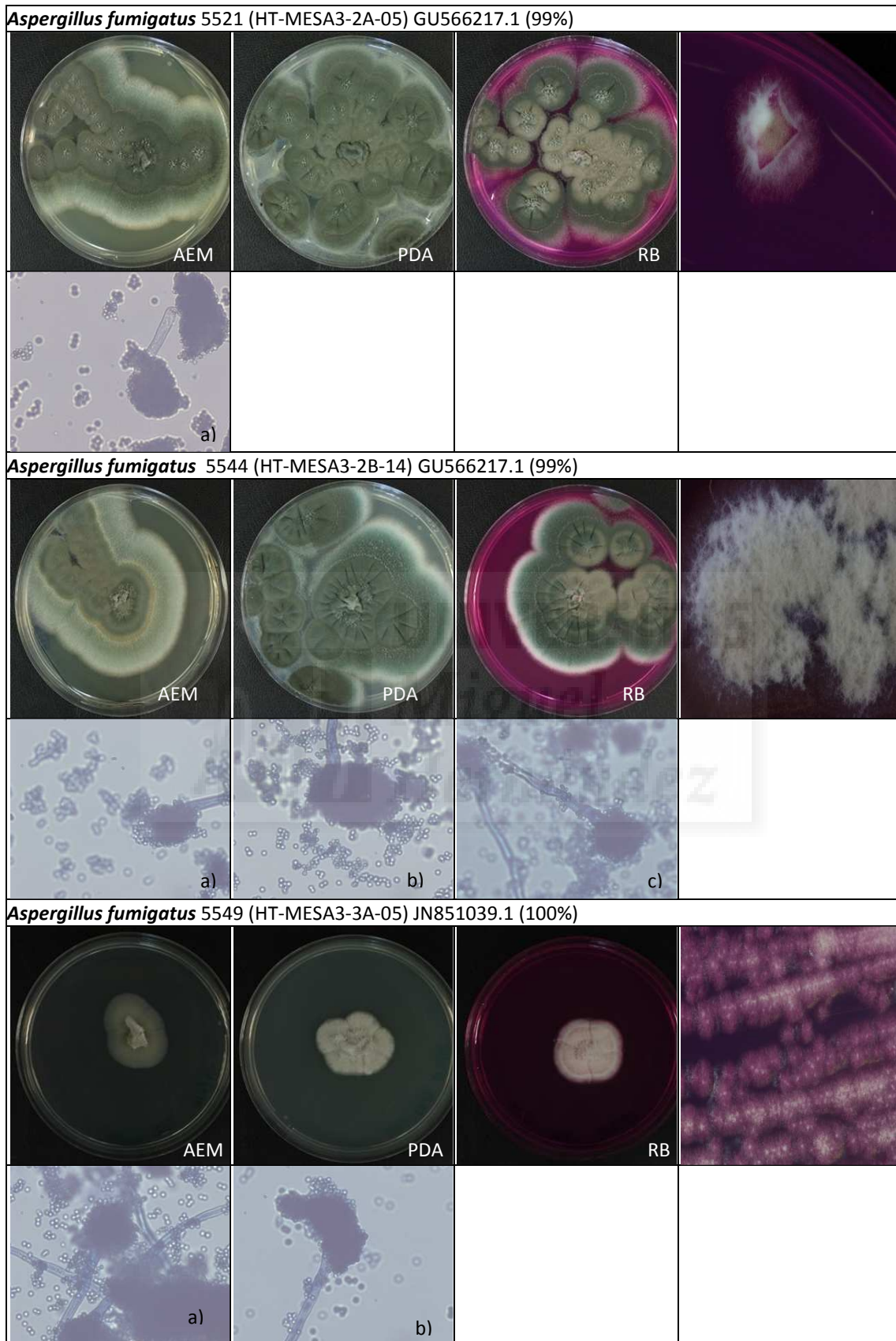


Figura 9k. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

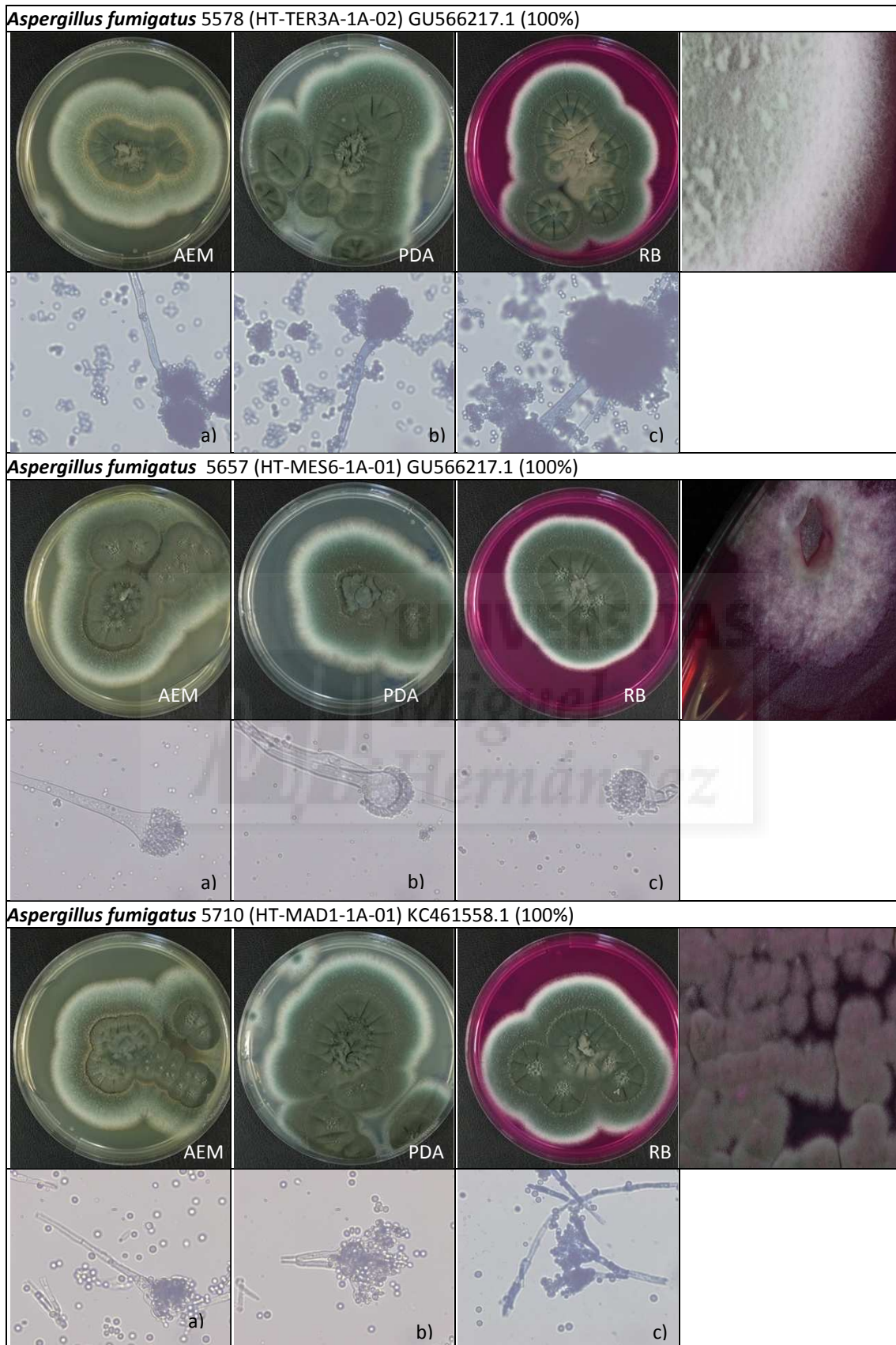


Figura 9I. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

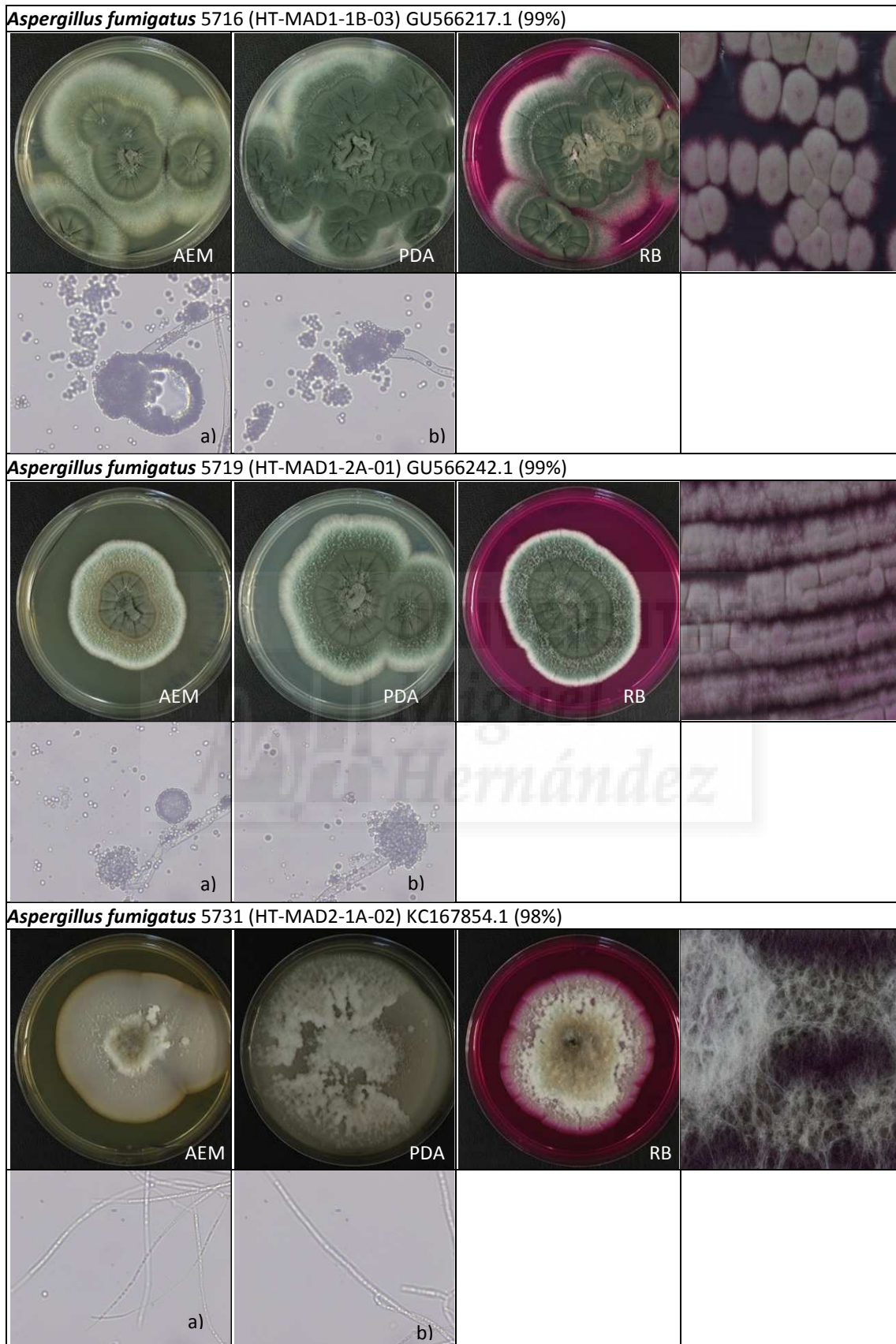


Figura 9m. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

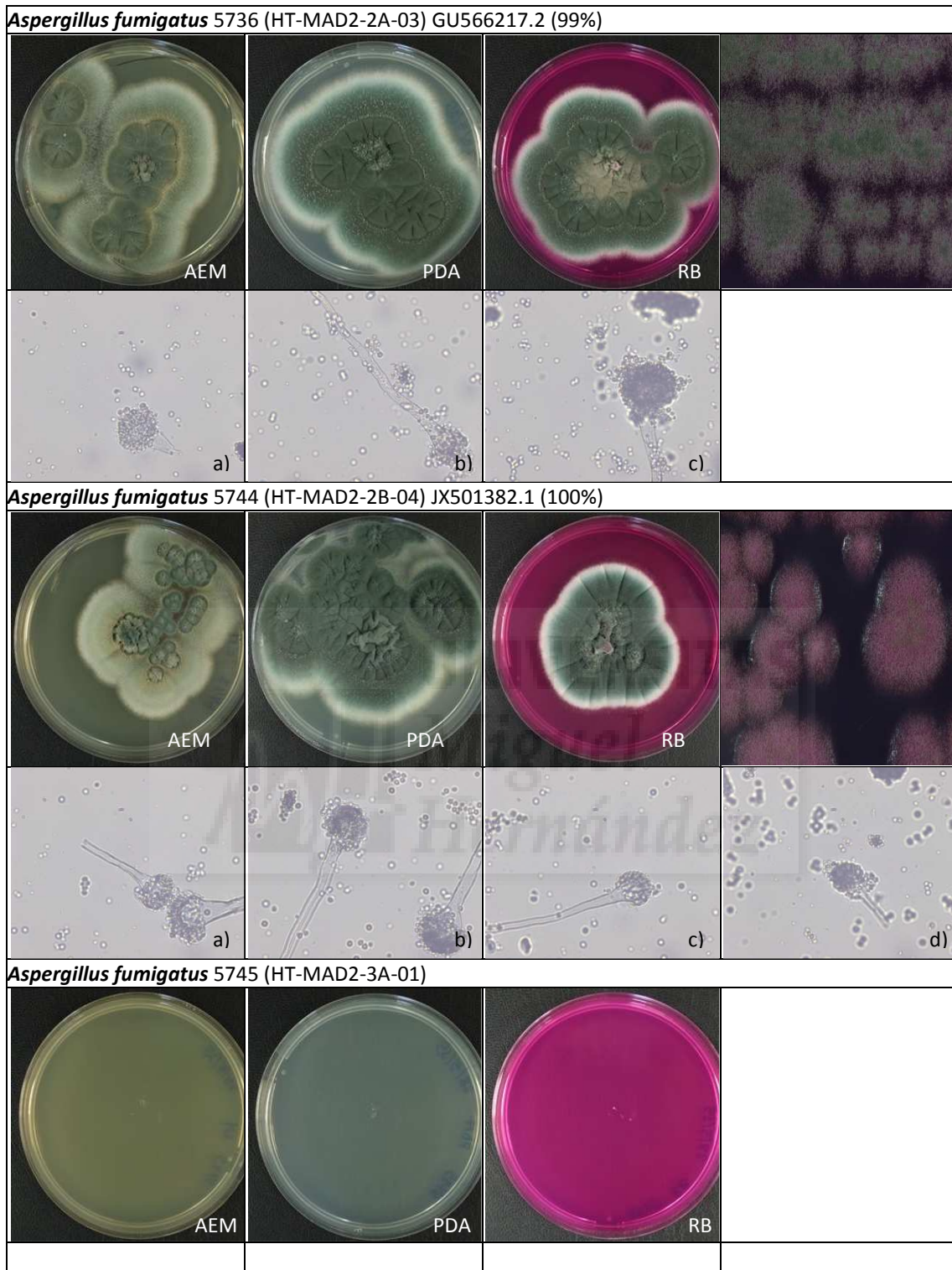


Figura 9n. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior). La cepa *Aspergillus fumigatus* 5745 no creció.

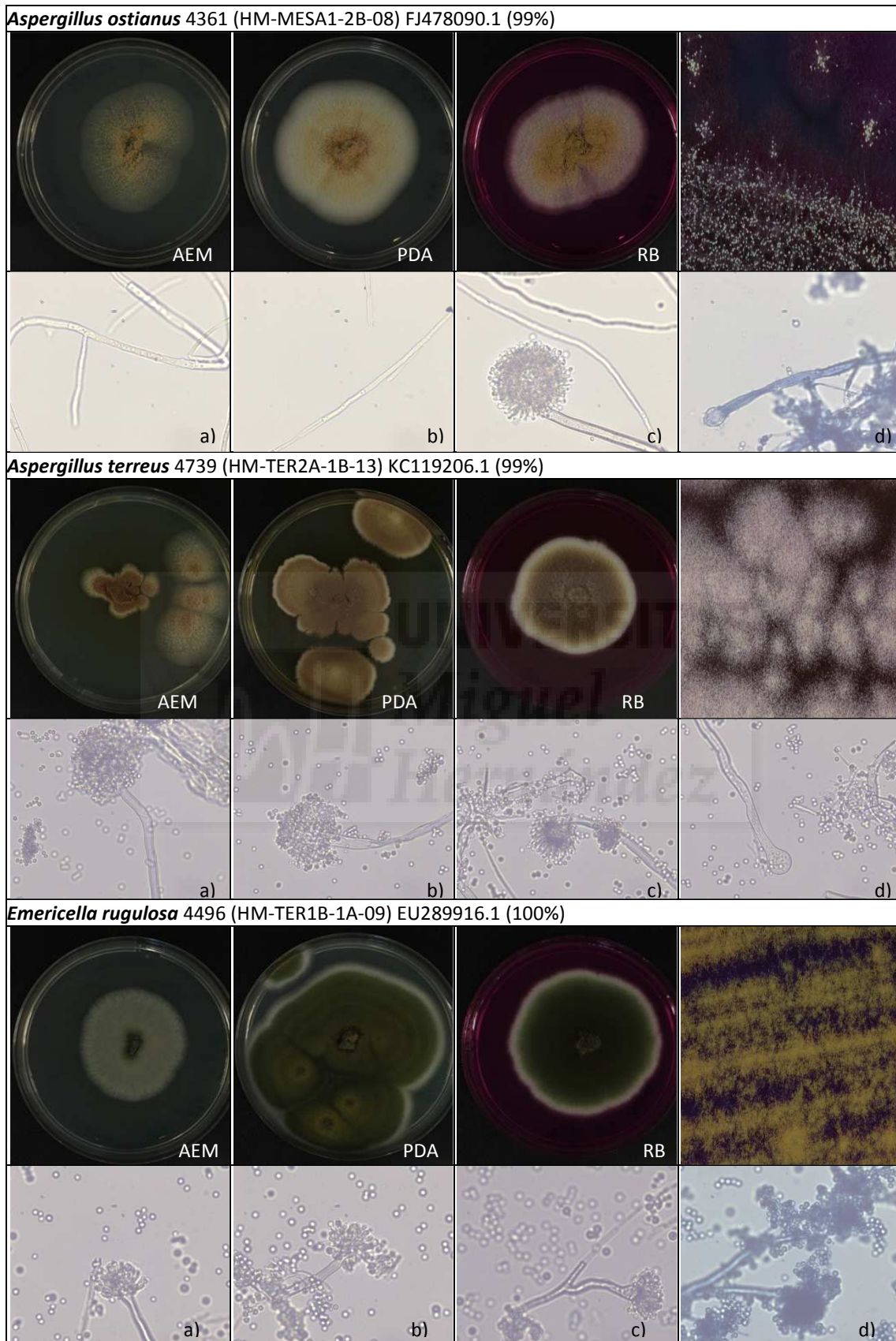


Figura 9o. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

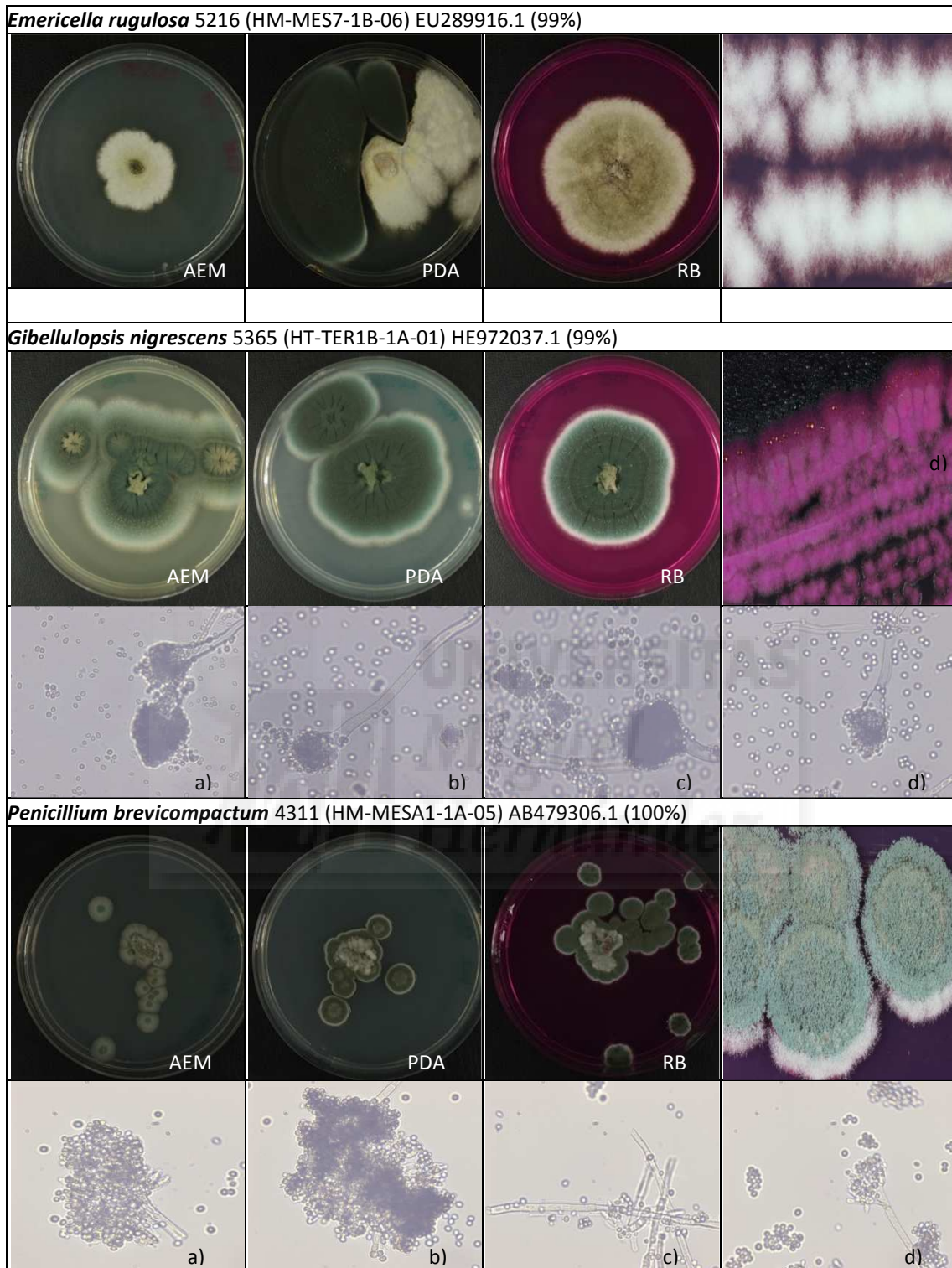


Figura 9p. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

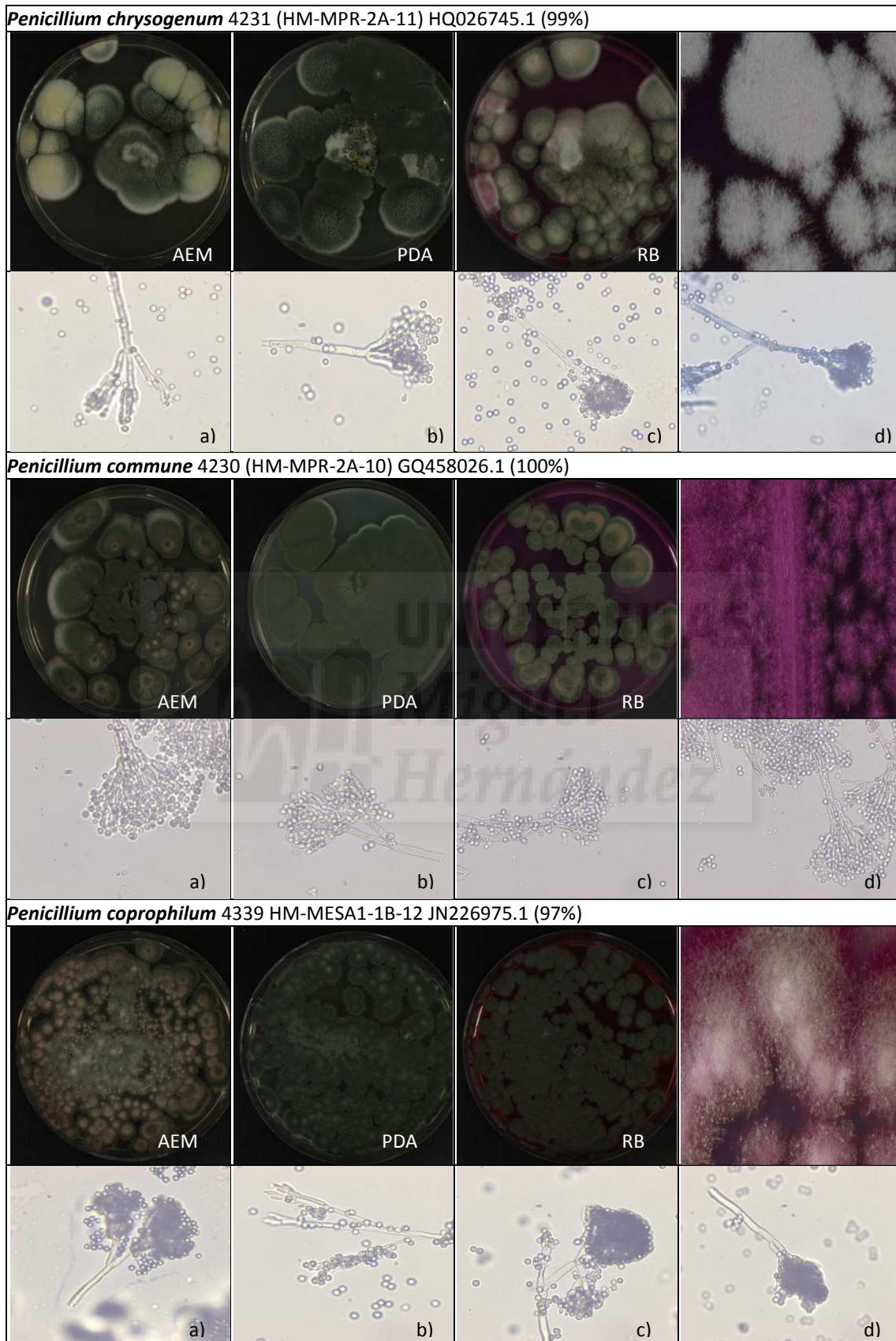


Figura 9q. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

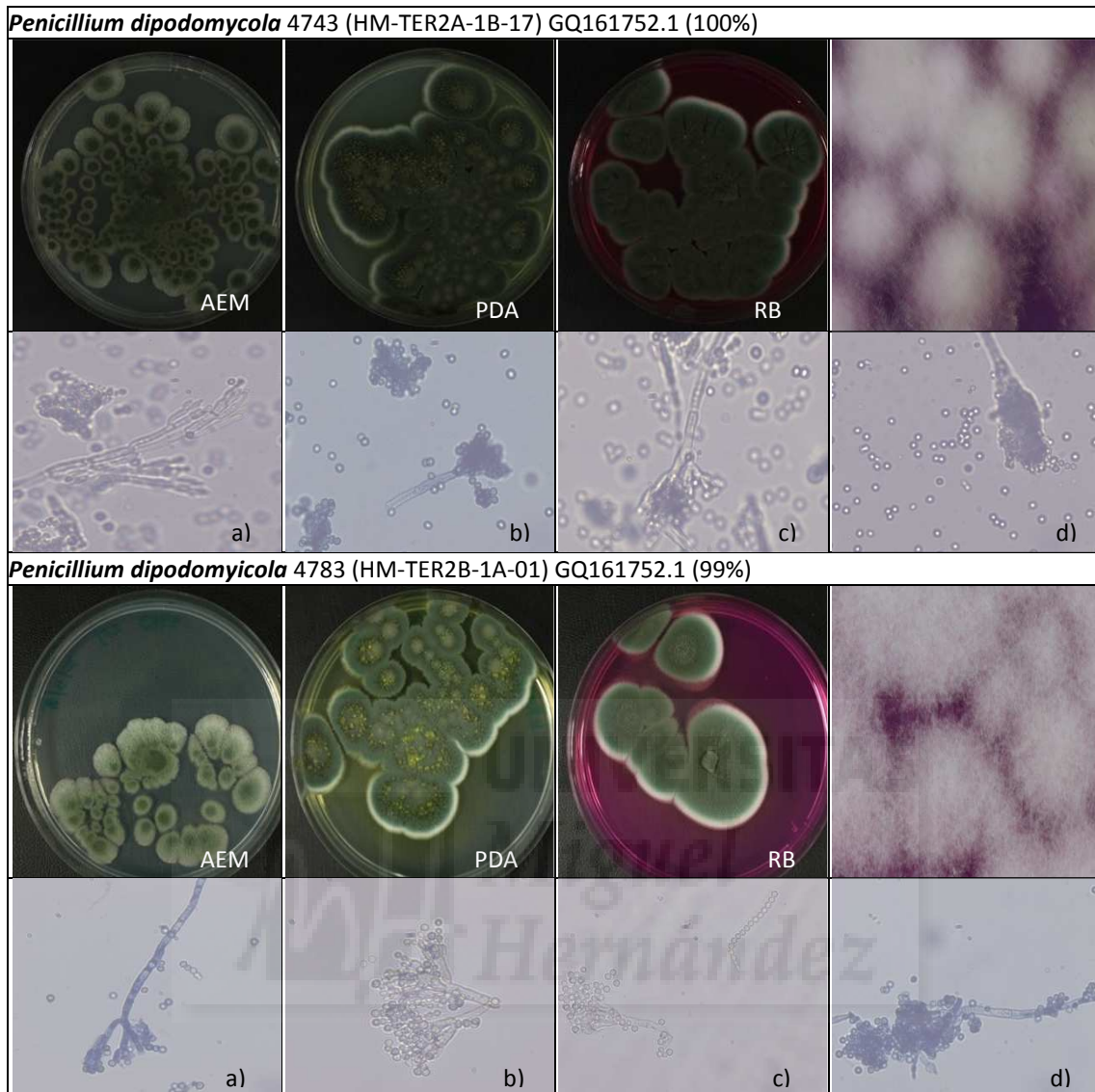


Figura 9r. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

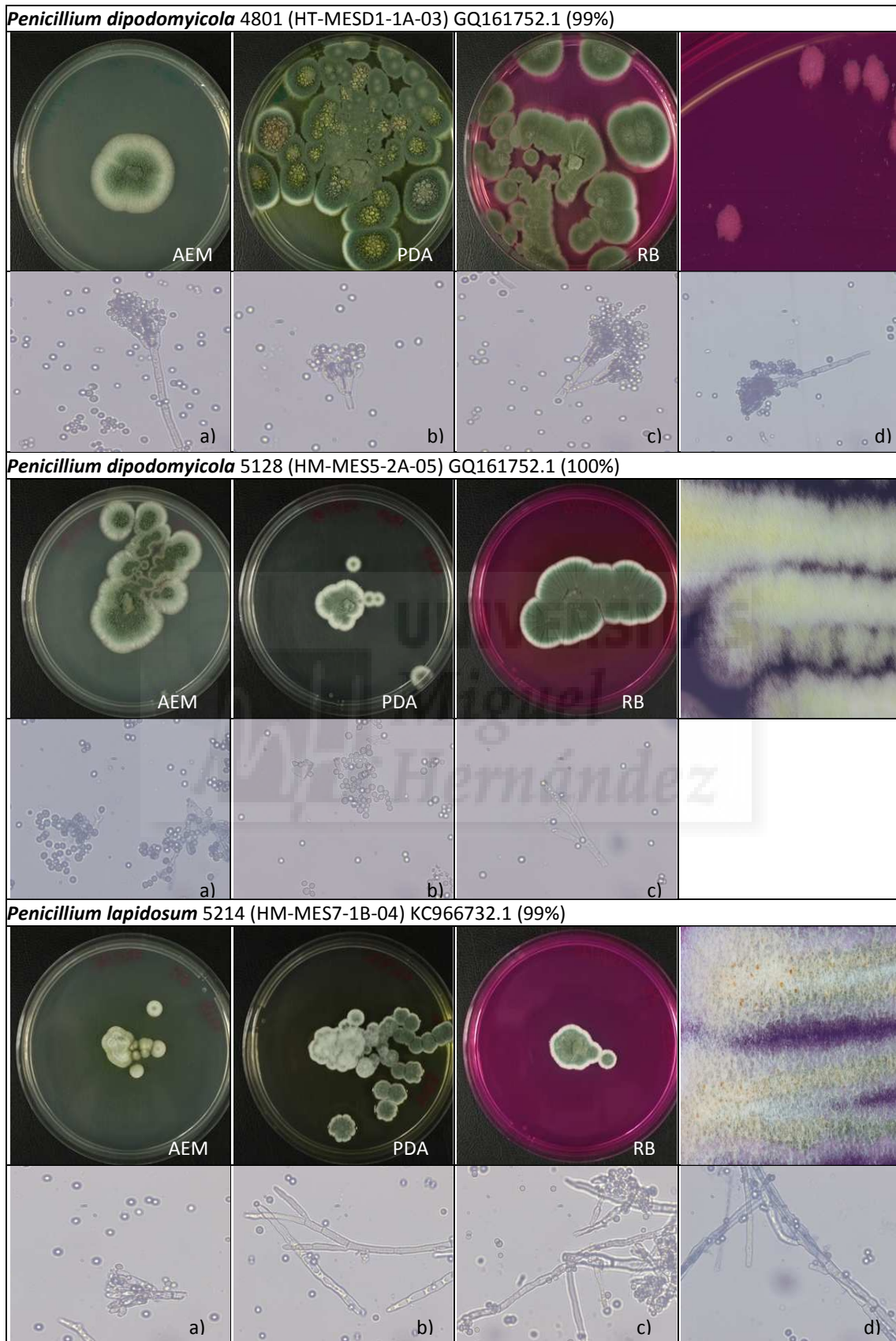


Figura 9s. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior)

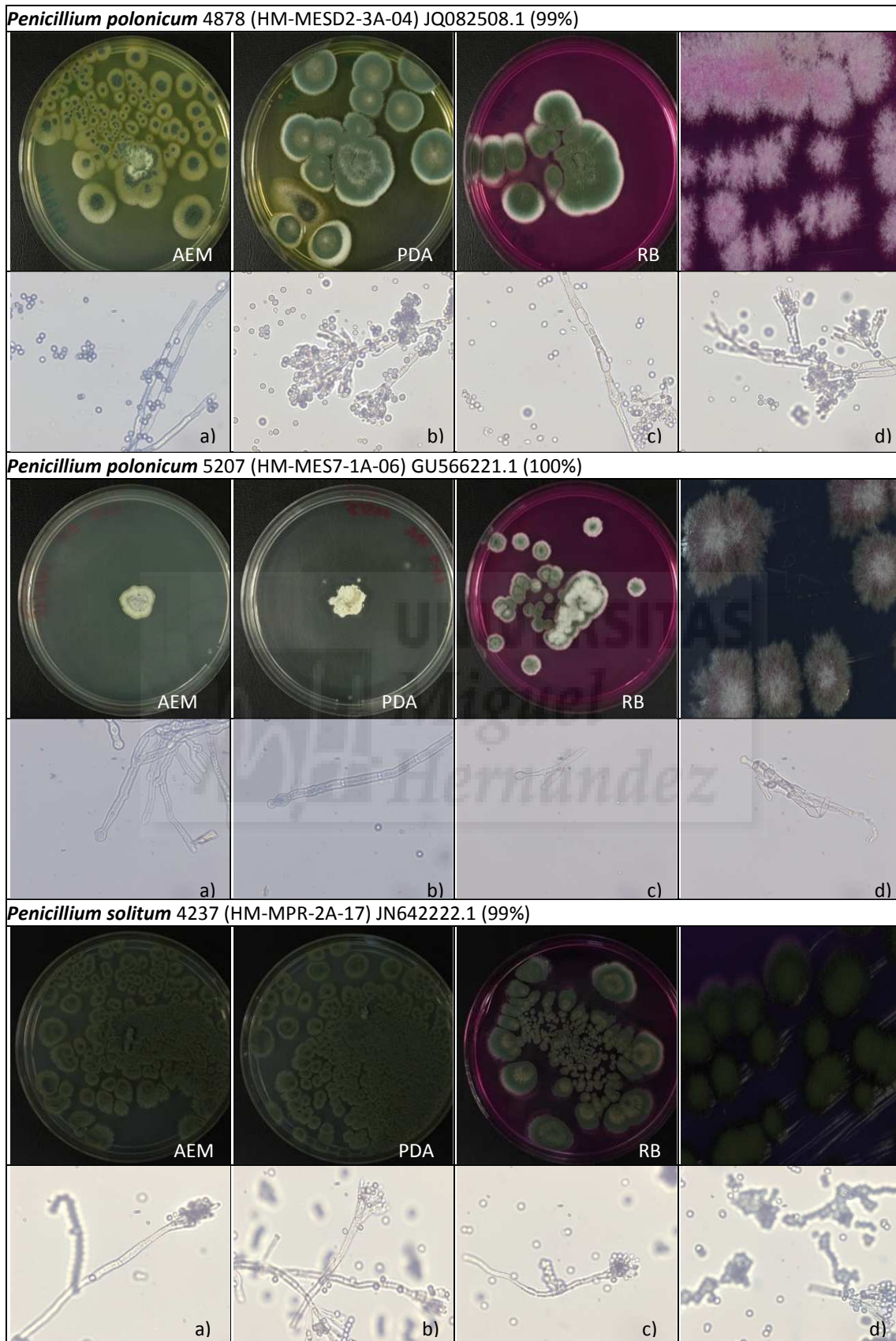


Figura 9t. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

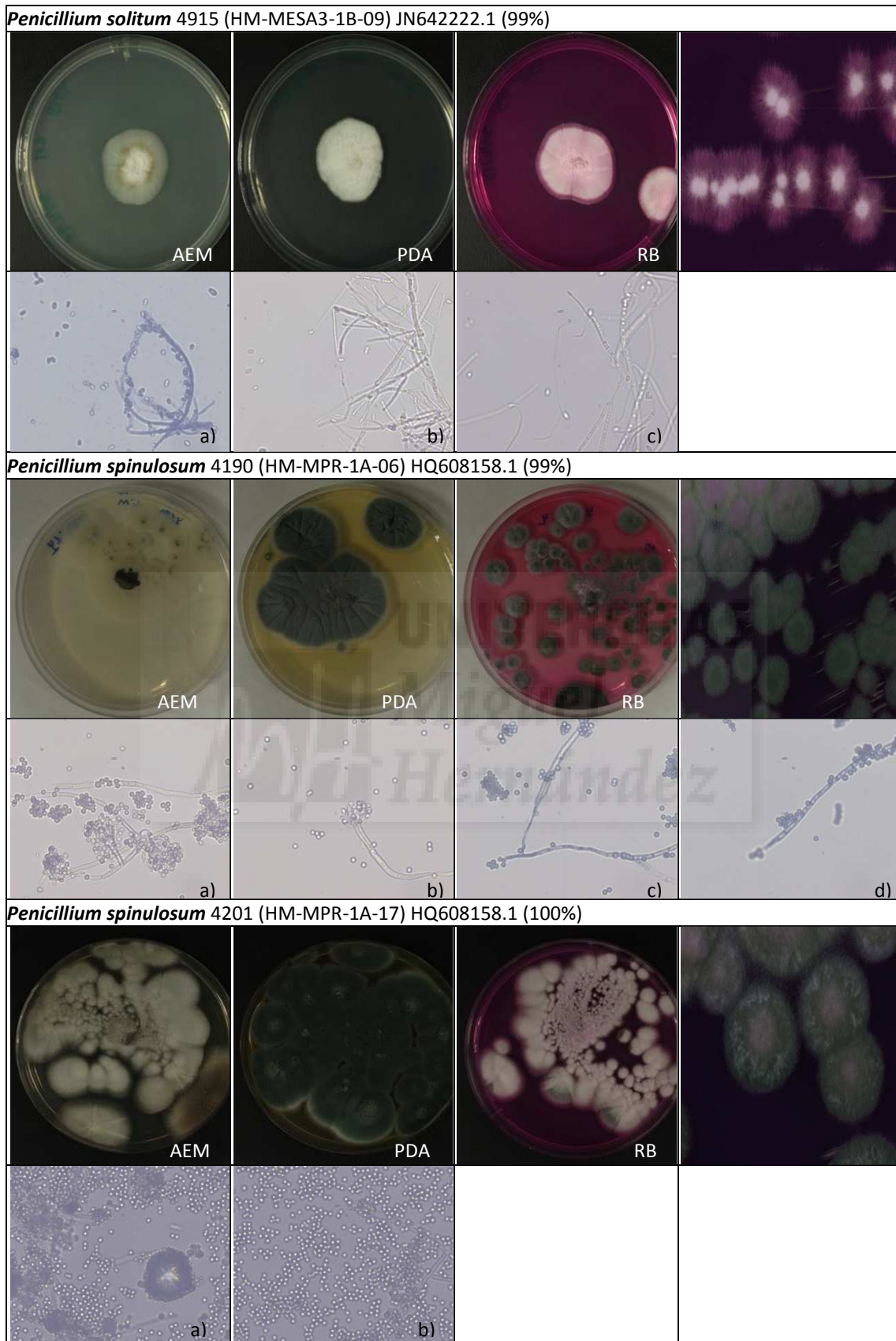


Figura 9u. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

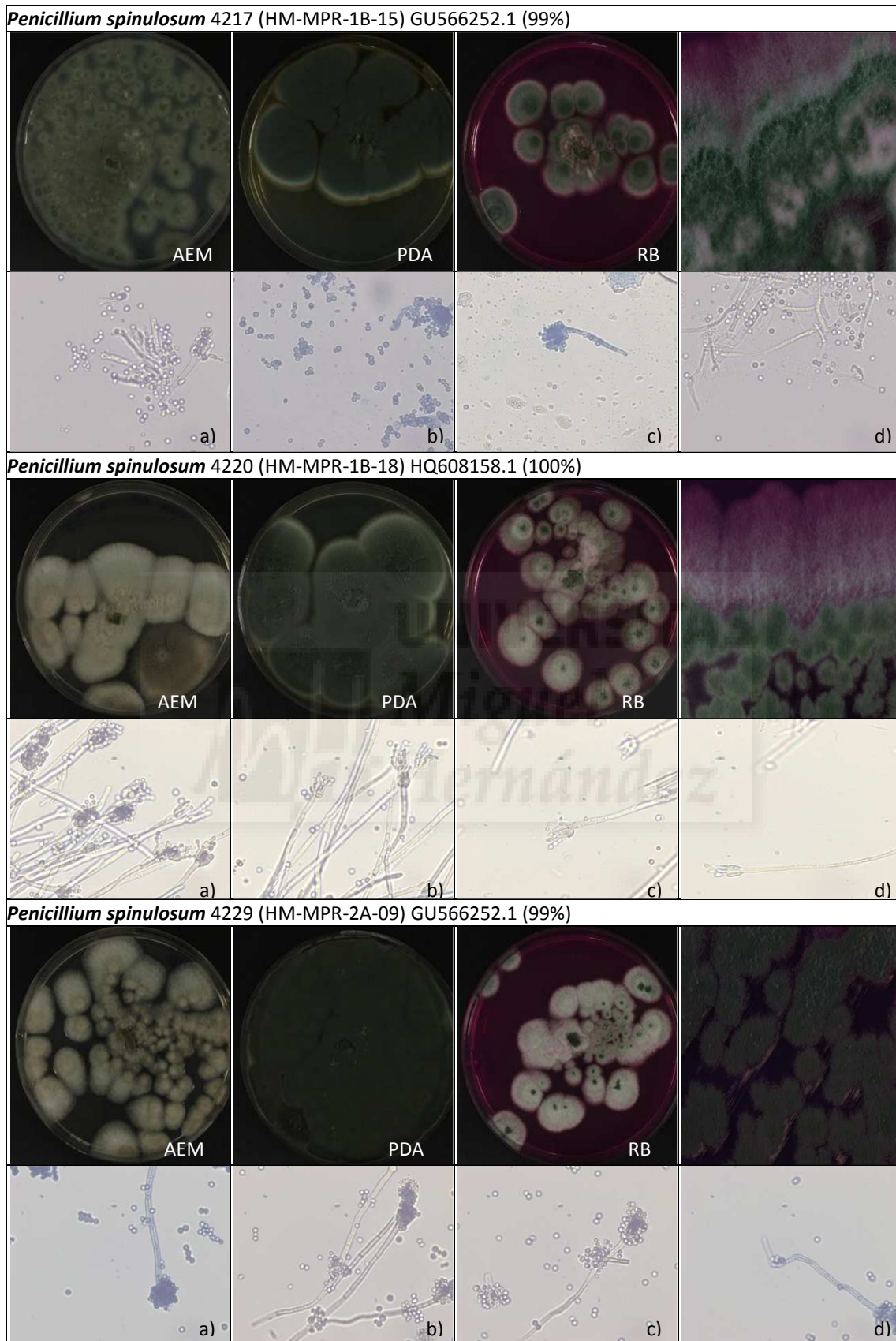


Figura 9v. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

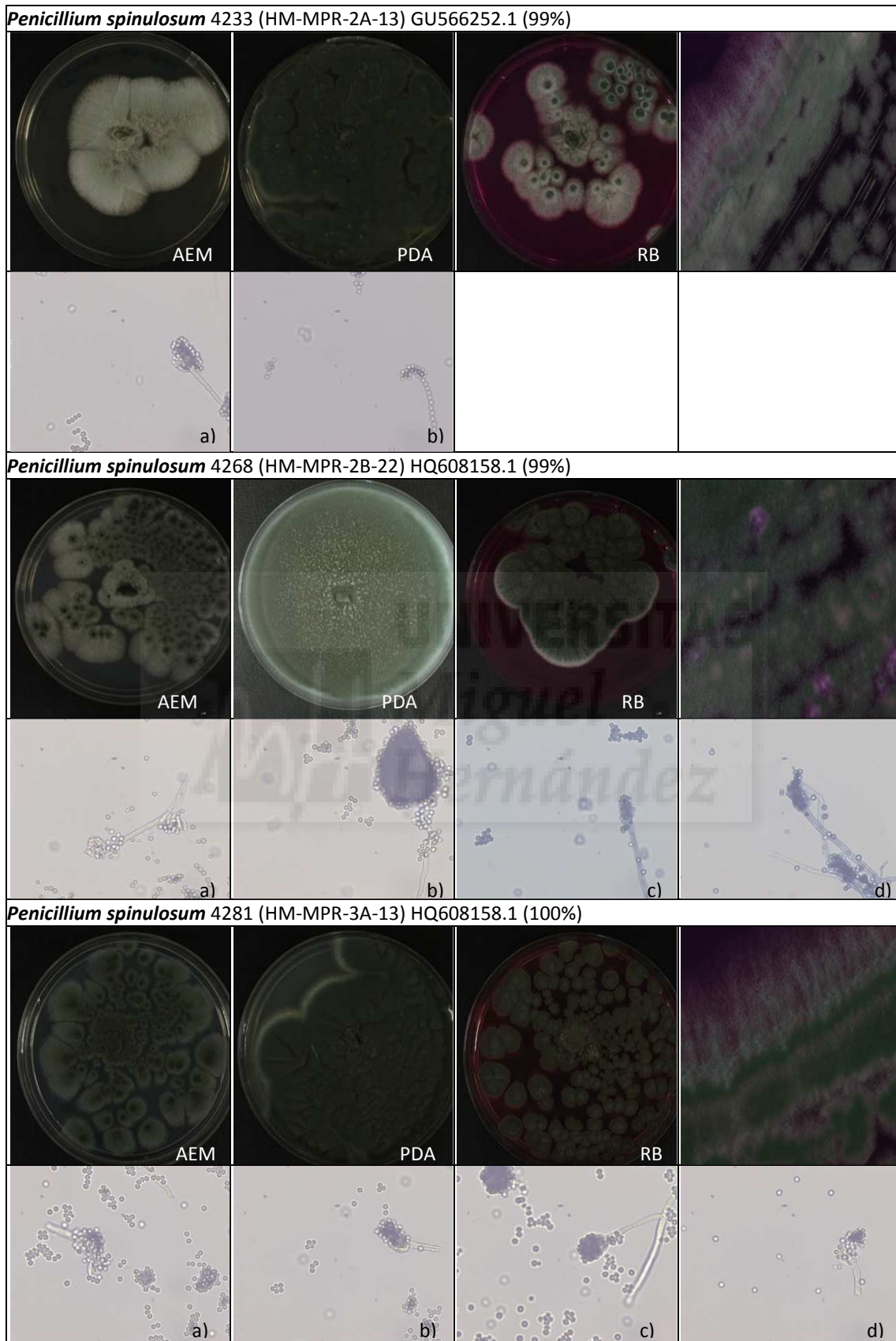


Figura 9w. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior)

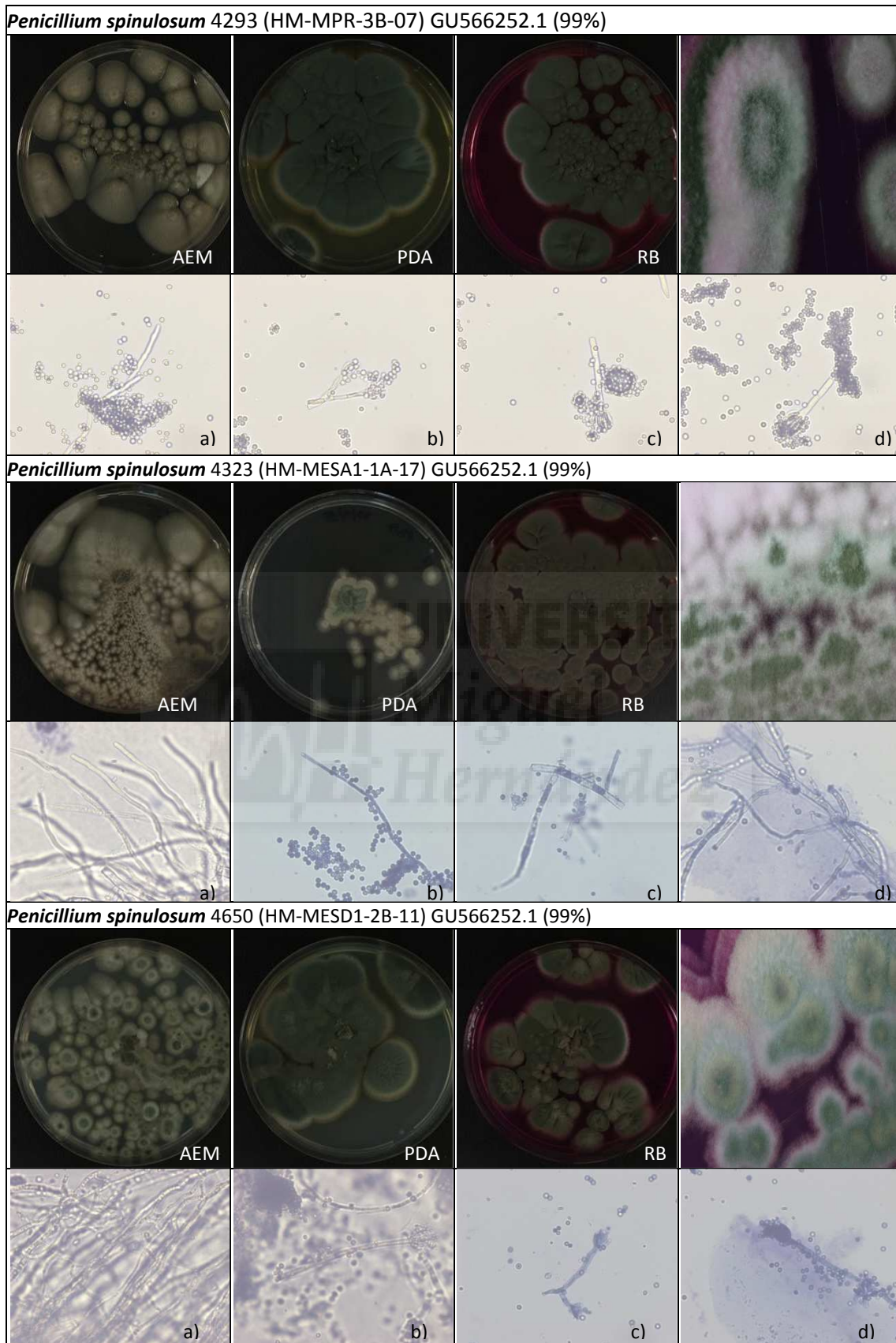


Figura 9x. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior)

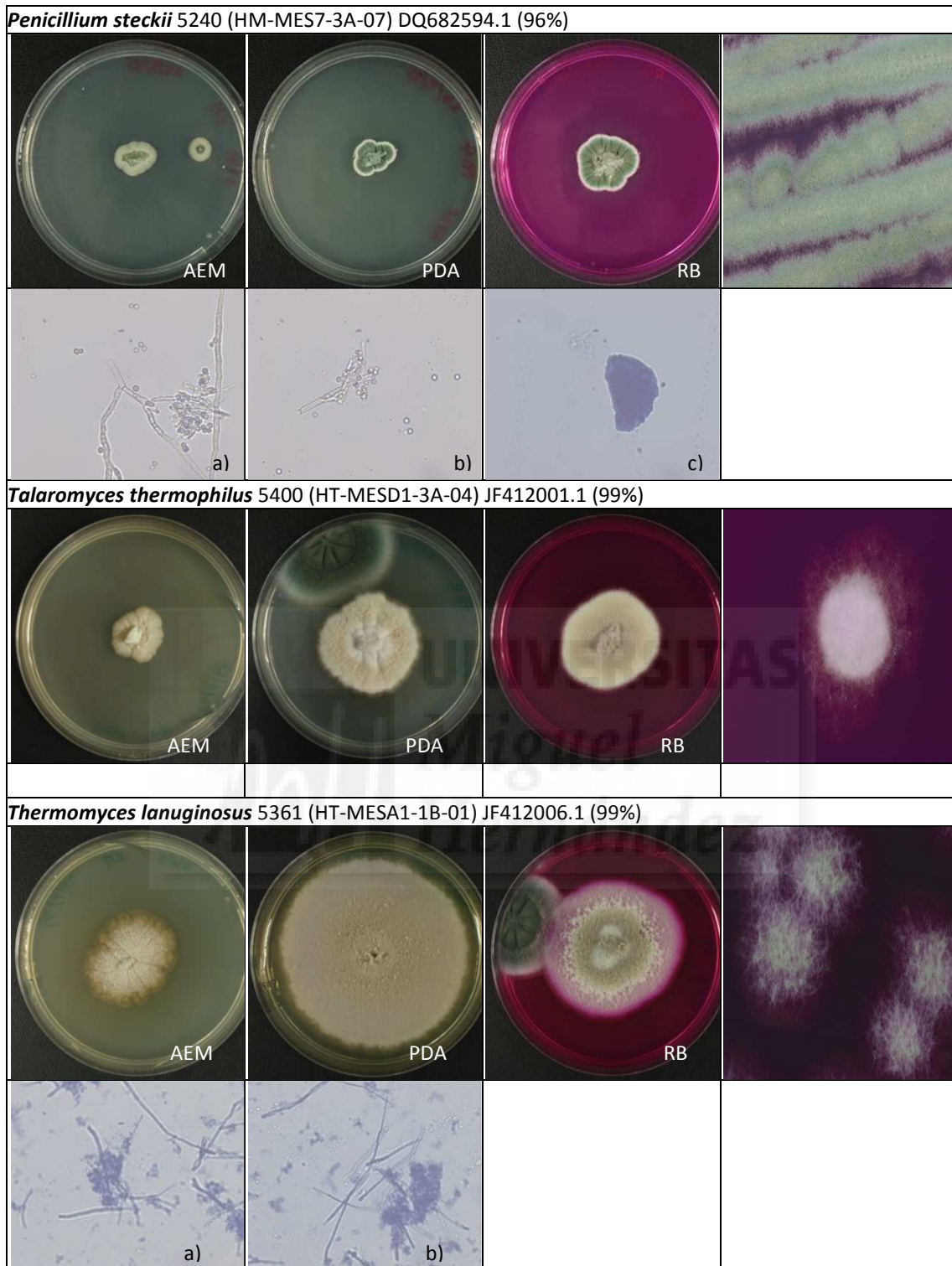


Figura 9y. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

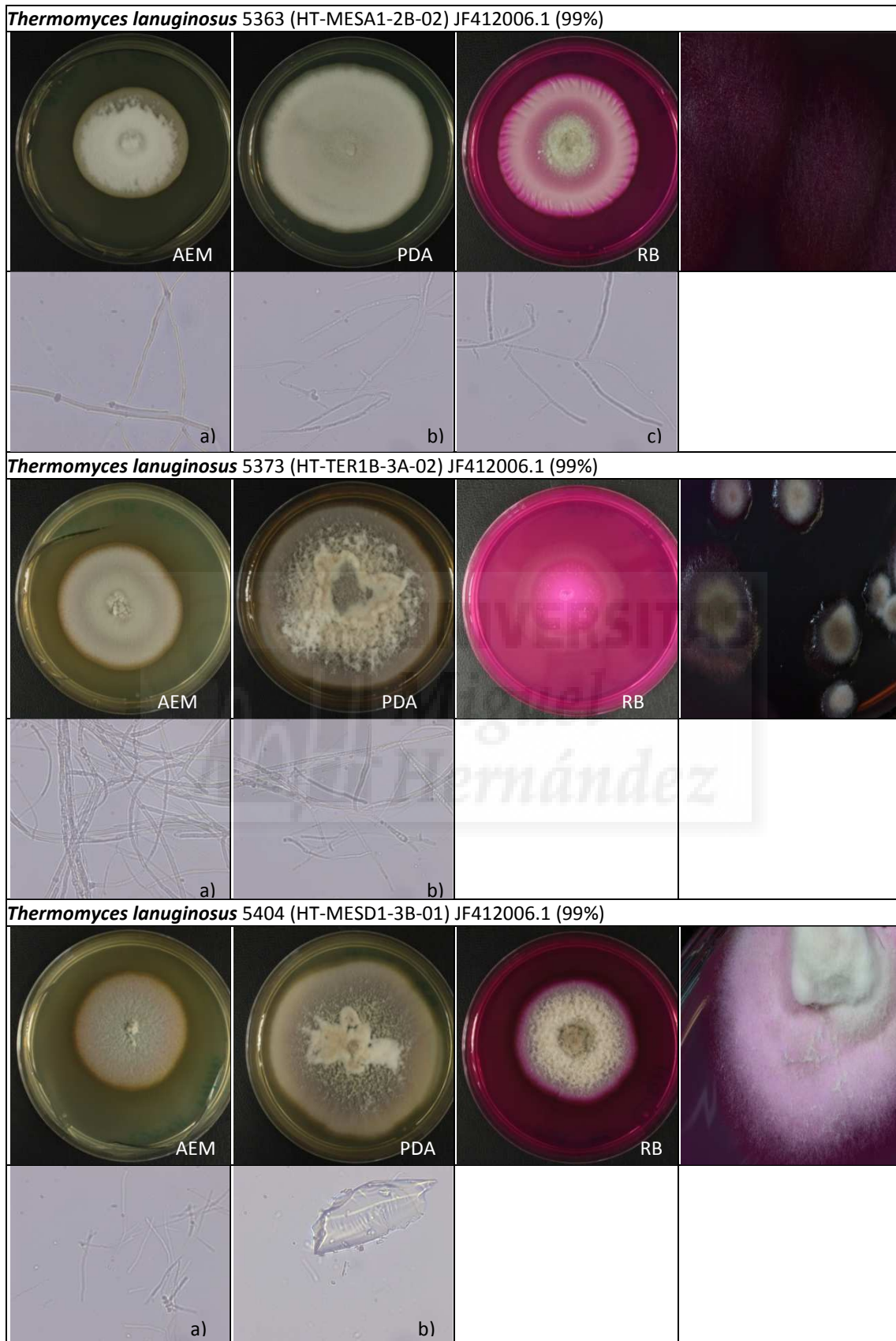


Figura 9z. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

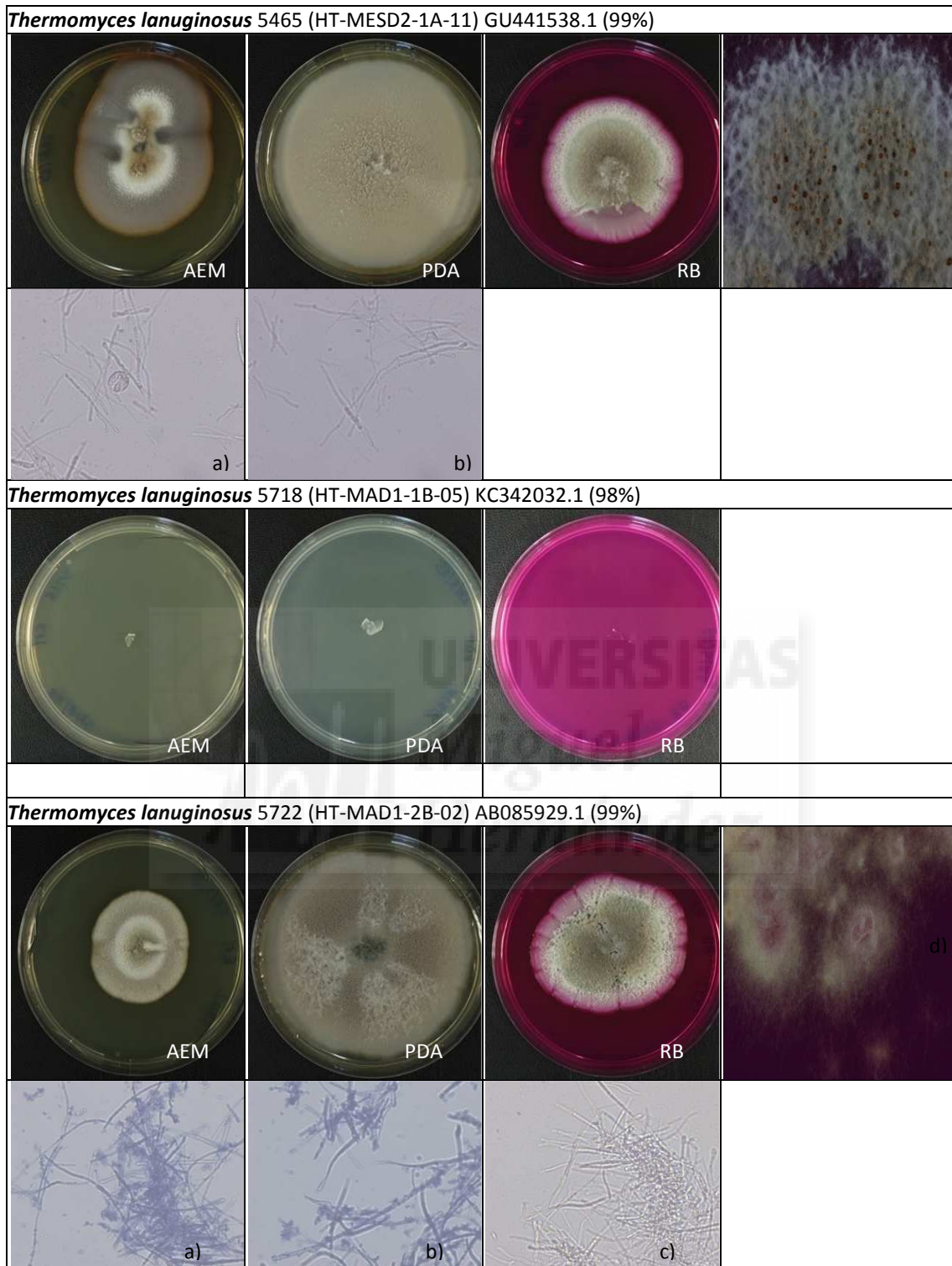


Figura 9aa. Fenotipo de especies de la Clase Eurotiomycetes Orden Eurotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

4.1.3. Phylum Ascomycota: Clase Leotiomyces

A la clase Leotiomyces se adscribió una única cepa identificada como *Gloeotinia temulenta* (Tabla 9a), que fue detectada sólo en el compost final (Tabla 9b). Este hongo presentó un micelio blanco algodonoso en los tres medios de cultivo empleados, aunque en PDA la cantidad de micelio aereo producida fue menor, por lo que tuvo un menor aspecto aterciopelado.

Tabla 9a. Hongos de la clase Leotiomyces-Orden Helotiales identificados*.

Id General	Termofilia	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
5348	0	HM	HM-PRF-3B-05	<i>Gloeotinia temulenta</i>	91	DQ235697.1

*Notas: Id General, número de identificación de la cepa; Termofilia: 0 mesófilo, 1 termotolerante mesófilo, 2 termotolerante termófilo, 3 termófilo; Programa, programa de aislamiento, HM-hongos mesófilos, HT-hongos termófilos; Cepa tipo, nomenclatura de la primera cepa aislada en el proceso (ver Material y Métodos, apartado 3.1); Identidad, especie o género con el que la secuencia de la cepa es más similar; % Identidad, las cepas cuya secuencia tiene una homología (% Identidad) con la depositada en el Genbank NCBI inferior al 95% pueden ser catalogadas sólo a nivel de género; No. Acceso, número de acceso en el GenBank NCBI de la secuencia con la que se obtuvo la homología de cada cepa.

Tabla 9b. Abundancia de las especies de la clase Leotiomyces-Orden Helotiales durante el compostaje*

Identidad	MUESTREO																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Gloeotinia temulenta</i>																			0,8

*Notas: Se indica la abundancia como el porcentaje respecto al recuento total de hongos. Muestréos realizados durante el proceso de compostaje (ver Material y Métodos, Tabla 5).

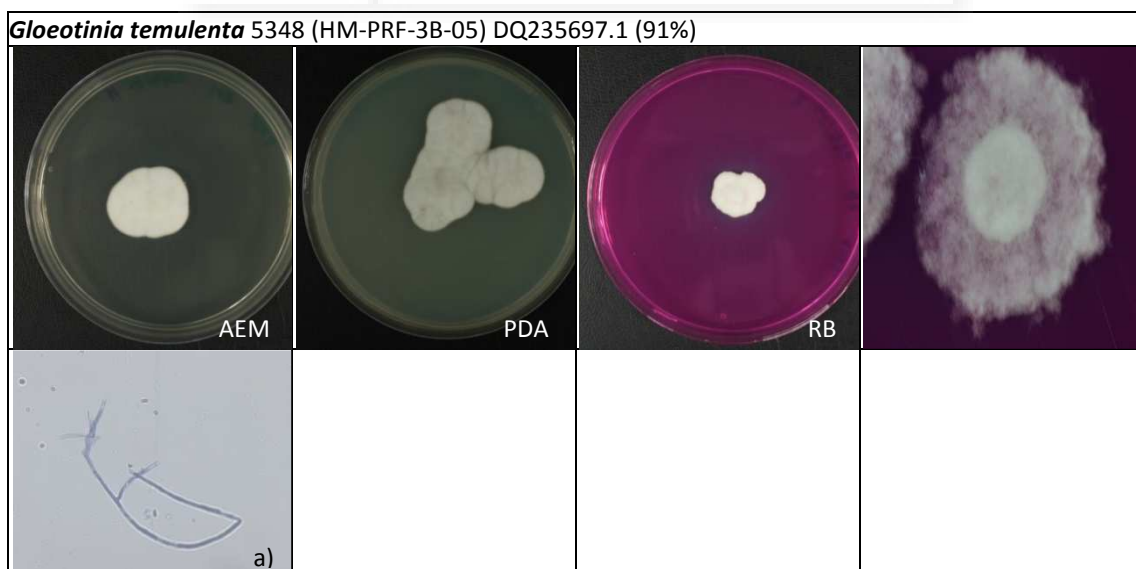


Figura 10. Fenotipo de especies de la Clase Leotiomyces Orden Helotiales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

4.1.4. Phylum Ascomycota: Clase Pezizomycetes

A la clase Pezizomycetes también se adscribió una única cepa identificada como *Cephalophora tropica* (Tabla 10a), que fue detectada sólo en dos muestreos del proceso, correspondientes a las fases iniciales del mismo (Tabla 10b). Este hongo presentó un micelio blanquecino en los tres medios de cultivo empleados, con una gran capacidad de colonización. Al microscopio se pueden observar los conidios de este hongo, que tienen un aspecto bastante singular, que lo caracterizan y facilitan su identificación. (Figura 11).

Tabla 10a. Hongos de la clase Pezizomycetes-Orden Pezizales identificados*.

Id General	Termofilia	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
4632	0	HM	HM-MESD1-2A-10	<i>Cephalophora tropica</i>	99	FJ792583.1

*Notas: Id General, número de identificación de la cepa; Termofilia: 0 mesófilo, 1 termotolerante mesófilo, 2 termotolerante termófilo, 3 termófilo; Programa, programa de aislamiento, HM-hongos mesófilos, HT-hongos termófilos; Cepa tipo, nomenclatura de la primera cepa aislada en el proceso (ver Material y Métodos, apartado 3.1); Identidad, especie o género con el que la secuencia de la cepa es más similar; % Identidad, las cepas cuya secuencia tiene una homología (% Identidad) con la depositada en el Genbank NCBI inferior al 95% pueden ser catalogadas sólo a nivel de género; No. Acceso, número de acceso en el GenBank NCBI de la secuencia con la que se obtuvo la homología de cada cepa.

Tabla 10b. Abundancia de las especies de la clase Pezizomycetes-Orden Pezizales durante el compostaje*

Identidad	MUESTREO																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
<i>Cephalophora tropica</i>					0,6			2,7												

*Notas: Se indica la abundancia como el porcentaje respecto al recuento total de hongos. Muestreos realizados durante el proceso de compostaje (ver Material y Métodos, Tabla 5).

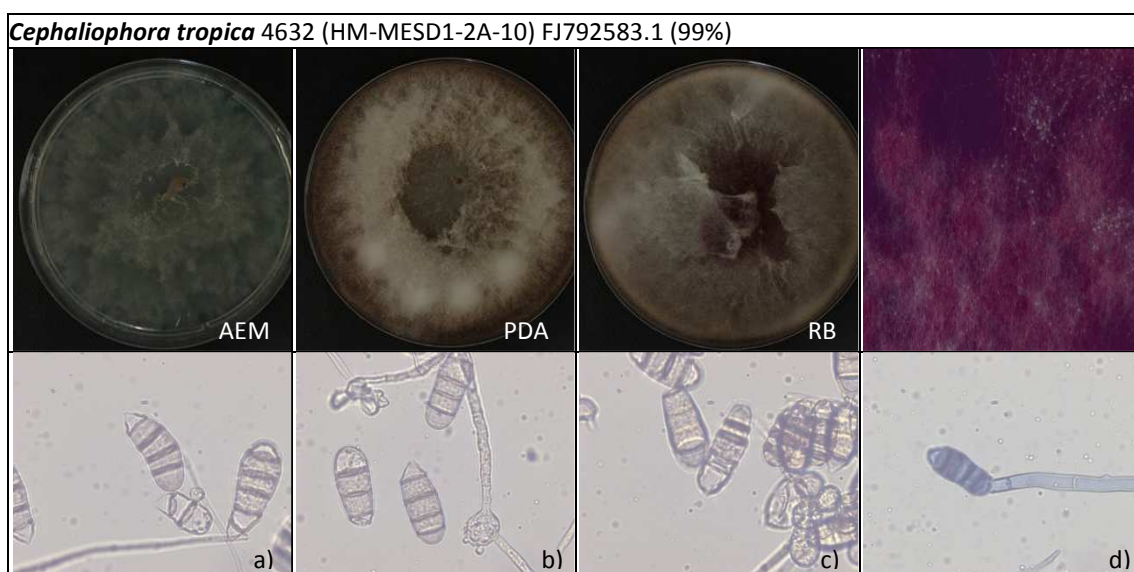


Figura 11. Fenotipo de especies de la Clase Pezizomycetes Orden Pezizales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

4.1.5. Phylum Ascomycota: Clase Saccharomycetes

La clase Saccharomycetes fue la tercera en representación con 34 cepas adscritas, pertenecientes a 6 géneros y 12 especies (Tabla 11a). Cinco cepas fueron identificadas como *Candida* e incluidas en tres especies, *C. mycentagii*, *C. railenensis* y *C. sequanensis*; diez cepas se identificaron como *Galactomyces*, *G. candidum* y *G. geotrichum*; una cepa perteneció a la especie *Kuraishia capsulata*; siete cepas se incluyeron en la especie *Nakazawaea holstii*; cuatro cepas se adscribieron a cuatro especies del género *Pichia*, *P. fermentans*, *P. holstii*, *mexicana* y *P. mississippiensis* (reclasificada como *Cyberlindnera mississippiensis*); y seis cepas identificadas como *Yamadazyma mexicana*. *G. geotrichum* fue la especie más persistente durante el compostaje, detectándose en 12 de los 19 muestreos realizados. Además, alcanzó una abundancia elevada, que en algunos muestreos estuvo alrededor del 5% (Tabla 11b).

Tabla 11a. Hongos de la clase Saccharomycetes-orden Saccharomycetales identificados*.

Id General	Termofilia	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
4205	0	HM	HM-MPR-1B-03	<i>Candida mycentagii</i>	94	FJ381698.1
4185	0	HM	HM-MPR-1A-01	<i>Candida railenensis</i>	99	FM178302.1
4307	0	HM	HM-MESA1-1A-01	<i>Candida railenensis</i>	99	FM178302.1
4226	1	HM	HM-MPR-2A-06	<i>Candida sequanensis</i>	99	FM178365.1
4251	0	HM	HM-MPR-2B-05	<i>Candida sequanensis</i>	100	FM178365.1
4187	0	HM	HM-MPR-1A-03	<i>Galactomyces candidum</i>	97	JN974288.1
4278	0	HM	HM-MPR-3A-10	<i>Galactomyces candidum</i>	100	JN974288.1
4318	0	HM	HM-MESA1-1A-12	<i>Galactomyces candidum</i>	98	JN974288.1
4188	0	HM	HM-MPR-1A-04	<i>Galactomyces geotrichum</i>	99	JN903644.1
4195	0	HM	HM-MPR-1A-11	<i>Galactomyces geotrichum</i>	100	JN903644.1
4196	0	HM	HM-MPR-1A-12	<i>Galactomyces geotrichum</i>	99	JN903644.1
4202	0	HM	HM-MPR-1A-18	<i>Galactomyces geotrichum</i>	98	JN903644.1
4210	1	HM	HM-MPR-1B-08	<i>Galactomyces geotrichum</i>	99	KC143429.1
4302	0	HM	HM-MPR-3B-16	<i>Galactomyces geotrichum</i>	98	KC143429.1
4320	0	HM	HM-MESA1-1A-14	<i>Galactomyces geotrichum</i>	99	KC143429.1
4418	0	HM	HM-TER1A-1A-22	<i>Galactomyces geotrichum</i>	99	JN903644.1
4265	0	HM	HM-MPR-2B-19	<i>Kuraishia capsulata</i>	98	EF568065.1
4269	0	HM	HM-MPR-3A-01	<i>Nakazawaea holstii</i>	99	AB449811.1
4277	0	HM	HM-MPR-3A-09	<i>Nakazawaea holstii</i>	99	AB449811.1
4287	0	HM	HM-MPR-3B-01	<i>Nakazawaea holstii</i>	98	AB449811.1
4328	0	HM	HM-MESA1-1B-01	<i>Nakazawaea holstii</i>	99	AB449811.1
4331	0	HM	HM-MESA1-1B-04	<i>Nakazawaea holstii</i>	100	AB449811.1
4358	0	HM	HM-MESA1-2B-05	<i>Nakazawaea holstii</i>	99	AB449811.1
4376	0	HM	HM-MESA1-3A-09	<i>Nakazawaea holstii</i>	100	AB449811.1
4354	1	HM	HM-MESA1-2B-01	<i>Pichia fermentans</i>	99	GQ458040.1
4203	0	HM	HM-MPR-1B-01	<i>Pichia holstii</i>	90	AY761154.1
4314	0	HM	HM-MESA1-1A-08	<i>Pichia mexicana</i>	99	FM178295.1
4227	0	HM	HM-MPR-2A-07	<i>Pichia mississippiensis</i>	99	DQ414542.1
4221	0	HM	HM-MPR-2A-01	<i>Yamadazyma mexicana</i>	99	AB365477.1
4288	0	HM	HM-MPR-3B-02	<i>Yamadazyma mexicana</i>	99	AB365477.1
4289	0	HM	HM-MPR-3B-03	<i>Yamadazyma mexicana</i>	99	AB365477.1
4308	0	HM	HM-MESA1-1A-02	<i>Yamadazyma mexicana</i>	99	AB365477.1
4359	0	HM	HM-MESA1-2B-06	<i>Yamadazyma mexicana</i>	99	AB365477.1
4398	0	HM	HM-TER1A-1A-02	<i>Yamadazyma mexicana</i>	99	AB365477.1

*Notas: Id General, número de identificación de la cepa; Termofilia: 0 mesófilo, 1 termotolerante mesófilo, 2 termotolerante termófilo, 3 termófilo; Programa, programa de aislamiento, HM-hongos mesófilos, HT-hongos termófilos; Cepa tipo, nomenclatura de la primera cepa aislada en el proceso (ver Material y Métodos, apartado 3.1); Identidad, especie o género con el que la secuencia de la cepa es más similar; % Identidad, las cepas cuya secuencia tiene una homología (% Identidad) con la depositada en el Genbank NCBI inferior al 95% pueden ser catalogadas sólo a nivel de género; No. Acceso, número de acceso en el GenBank NCBI de la secuencia con la que se obtuvo la homología de cada cepa.

Tabla 11b. Abundancia de las especies de la clase Saccharomycetes-orden Saccharomycetales durante el compostaje*

Identidad*	MUESTREO																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Candida railenensis</i>	6,4	2,6																	
<i>Candida sequanensis</i>	6,5																		
<i>Cyberlindnera mississippiensis**</i>	6,4																		
<i>Galactomyces geotrichum</i>	5,4	2,1	6,3	1,0	0,2	4,8	1,8		0,5		3,7		0,5			1,0	0,1		
<i>Geotrichum candidum</i>	3,4	4,6	2,8	1,5															
<i>Kuraishia capsulata</i>	0,2	0,5																	
<i>Nakazawaea holstii</i>	6,7	4,6	2,4																
<i>Pichia fermentans</i>		0,5																	
<i>Yamadazyma mexicanum</i>	6,7	11,8	4,5	1,0		1,9													

*Notas: Se indica la abundancia como el porcentaje respecto al recuento total de hongos. Muestreos realizados durante el proceso de compostaje (ver Material y Métodos, Tabla 5).

**Corresponde a *Pichia mississippiensis*, se indica el nombre actualmente aceptado según mycobank.

Las Figuras 12a-l muestran el fenotipo macroscópico y microscópico de las cepas adscritas a la clase Saccharomycetes.

La mayoría de miembros de la clase son levaduras, así todas las especies de *Candida* mostraron un crecimiento en forma de levadura, con colonias cremosas y de coloración blanquecina, y en las preparaciones microscópicas se observaron las células de levaduras aisladas sin presencia de hifas (Figura 12a-b).

Las cepas del género *Galactomyces* presentaron un crecimiento filamentososo (Figuras 12b-f) con un micelio que generalmente fue blanco en todos los medios de cultivo empleados.

Kuraishia capsulata, todas las cepas de *Nakazawaea holstii* y las distintas especies de *Pichia* fueron levaduras (Figuras 12f-i). Los cultivos de *K. capsulata* tuvieron un color blanquecino y mucoso, especialmente en agar extracto de malta (AEM) (Figura 12f). *N. holstii* dio lugar a colonias blanquecinas y cremosas, excepto en rosa de bengala, medio en el que adquirieron una tonalidad rosácea (Figuras 12f-h). Las distintas especies de *Pichia* crecieron dando lugar a colonias blancas en todos los medios de cultivo (Figuras 12i-j). Las principales diferencias entre las distintas especies del género se detectaron a nivel microscópico. Así por ejemplo, *P. fermentans* presentó unas células mas grandes que el resto de especies (Figura 12i). *Yamadazyma mexicana* tuvo un aspecto macroscópico similar a *Pichia* (Figuras 12j-l).

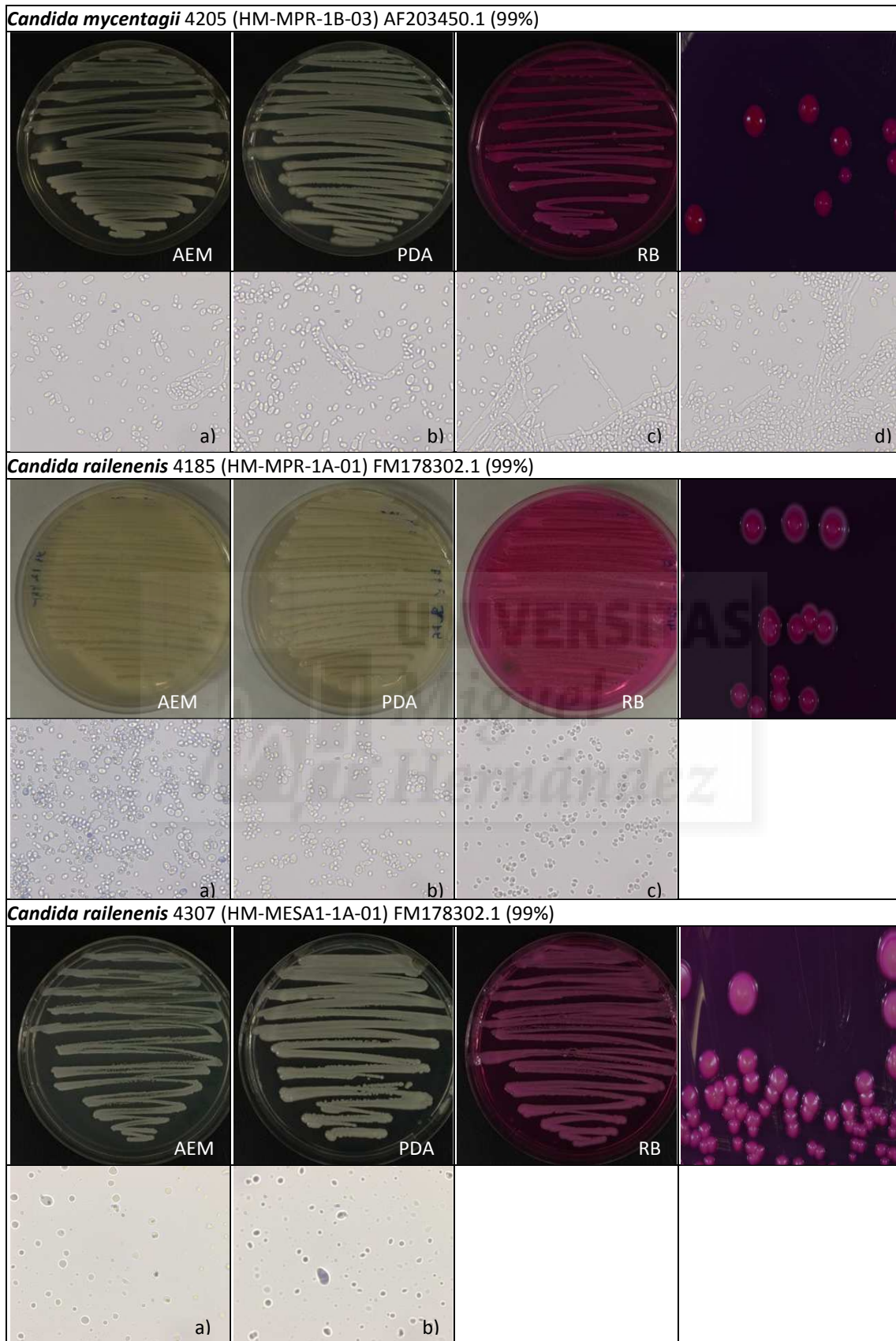


Figura 12a. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

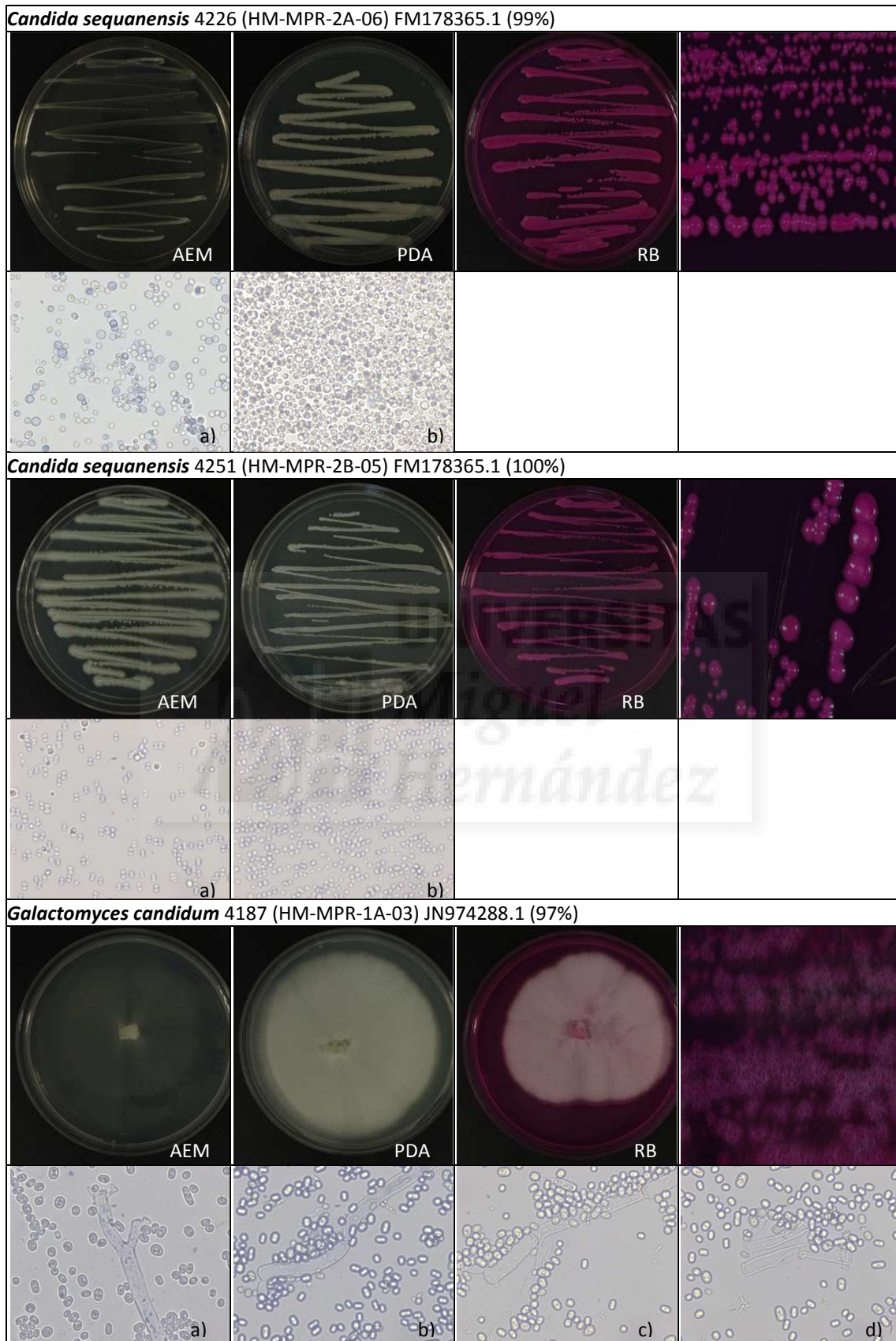


Figura 12b. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

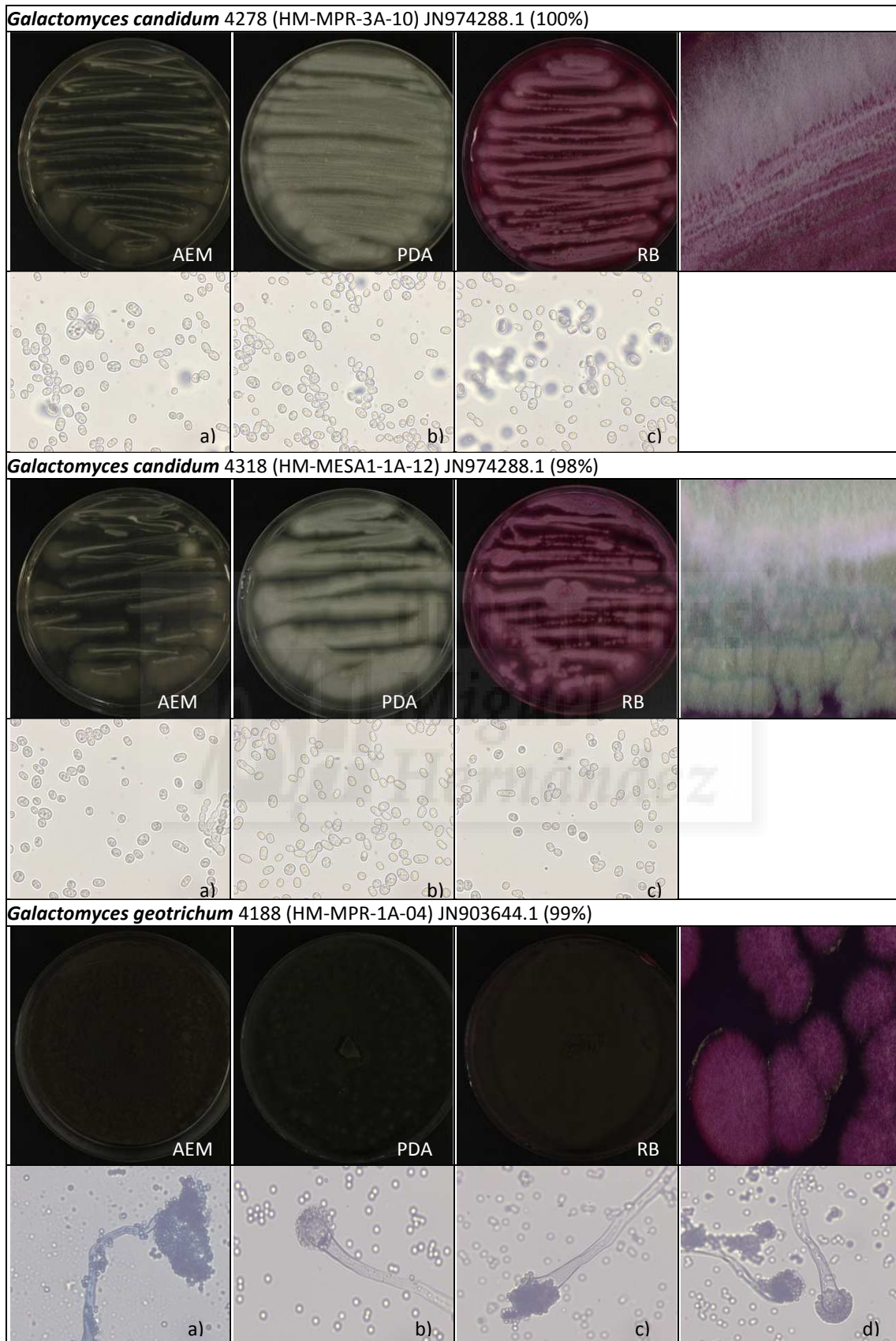


Figura 12c. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

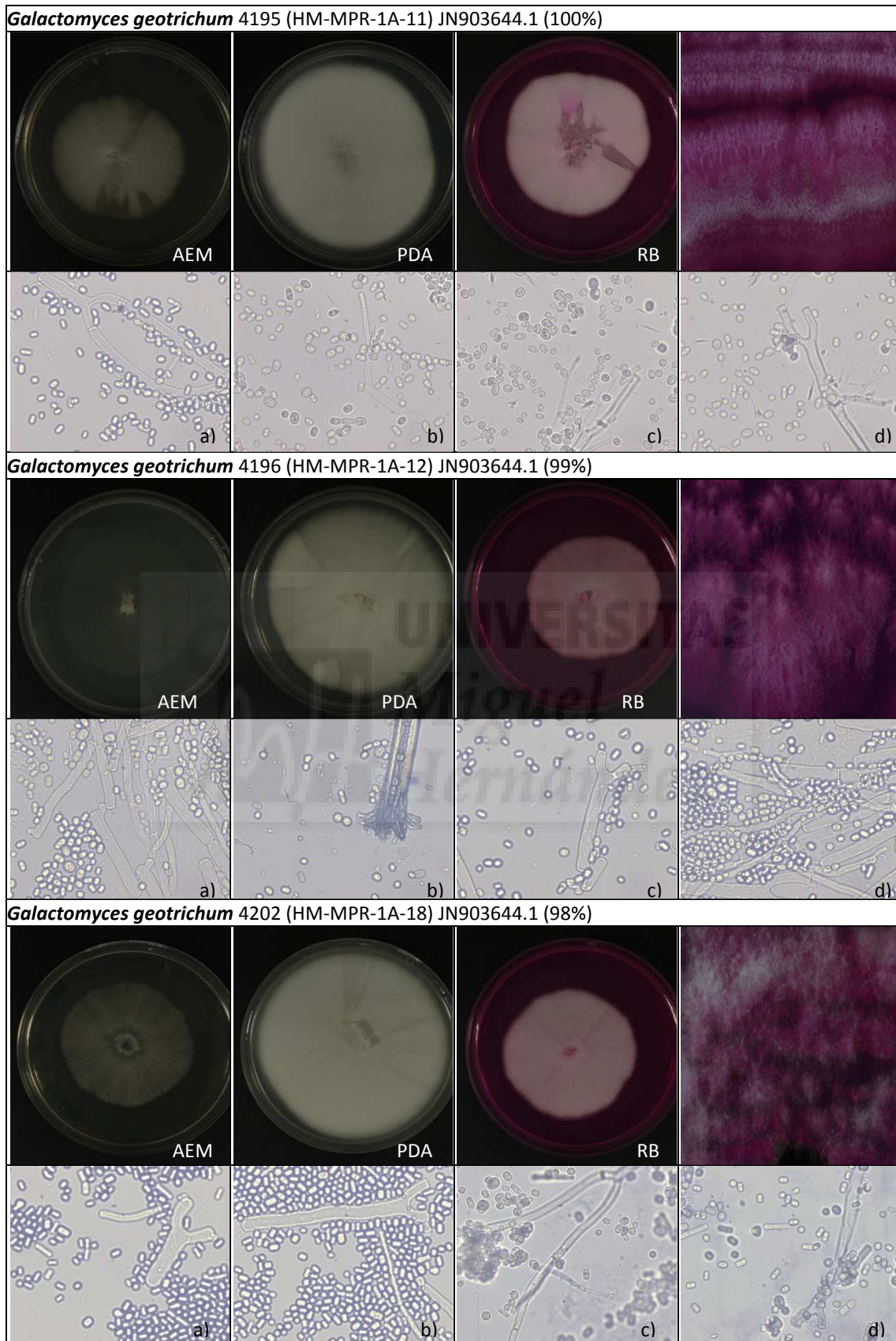


Figura 12d. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

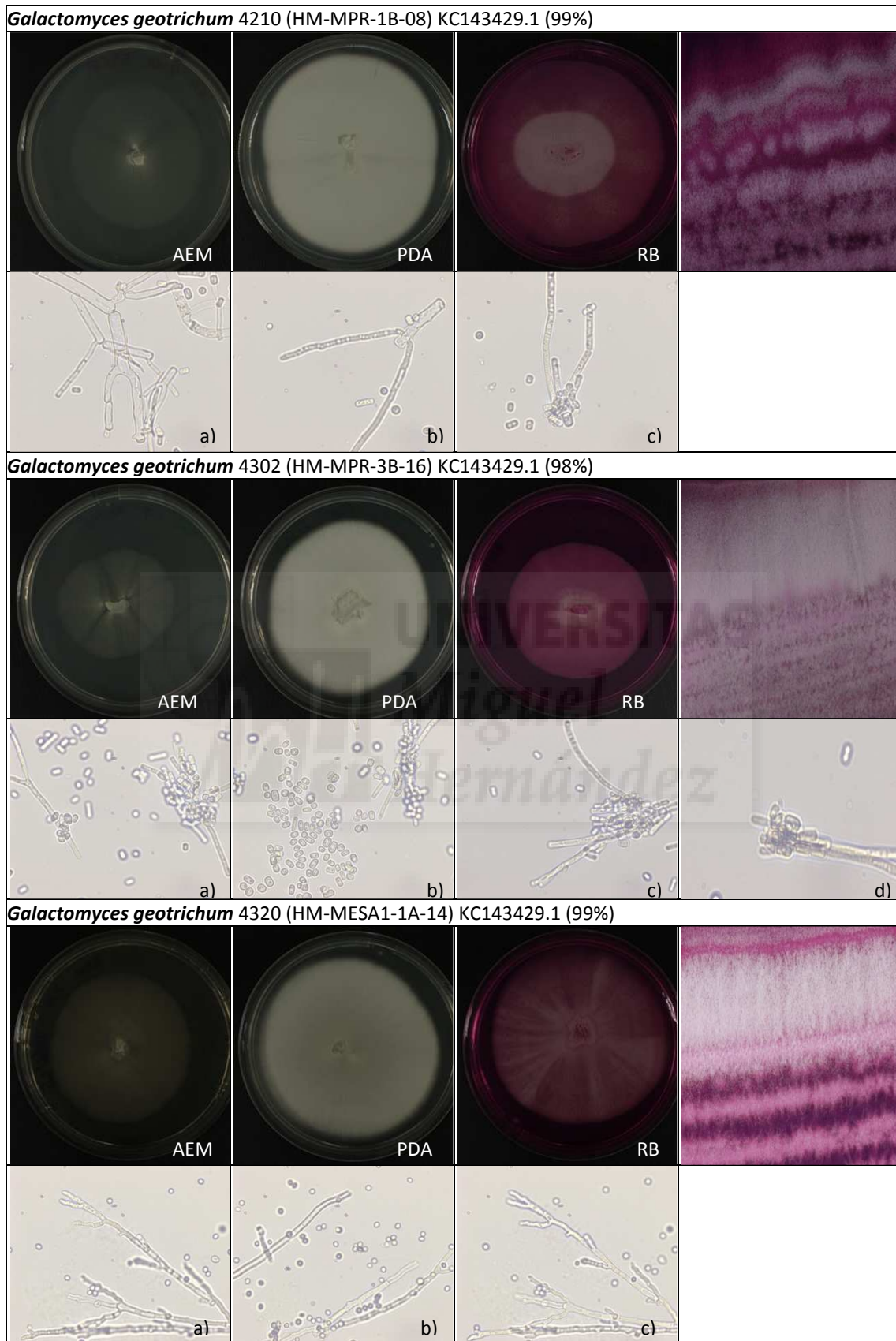


Figura 12e. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

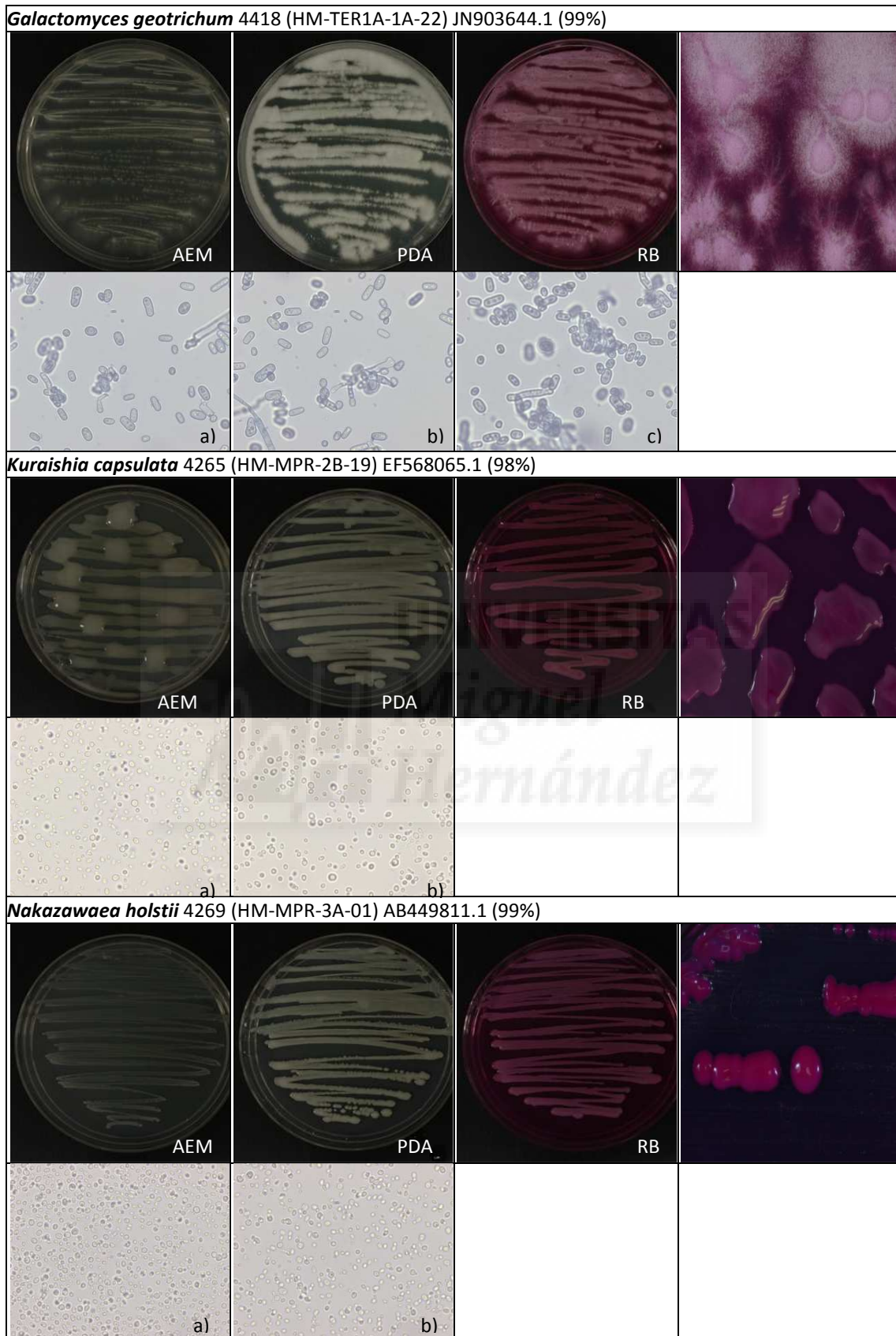


Figura 12f. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

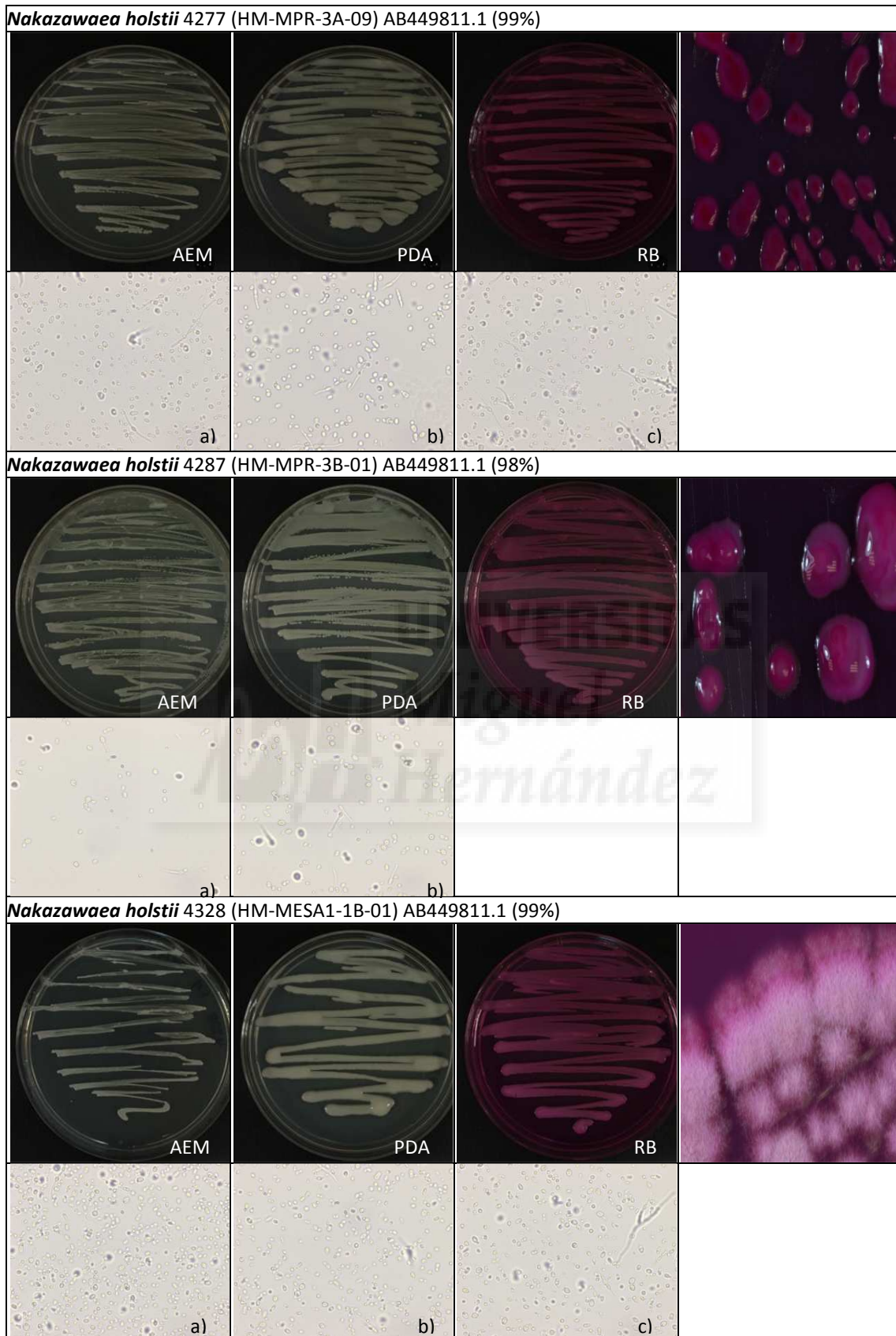


Figura 12g. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

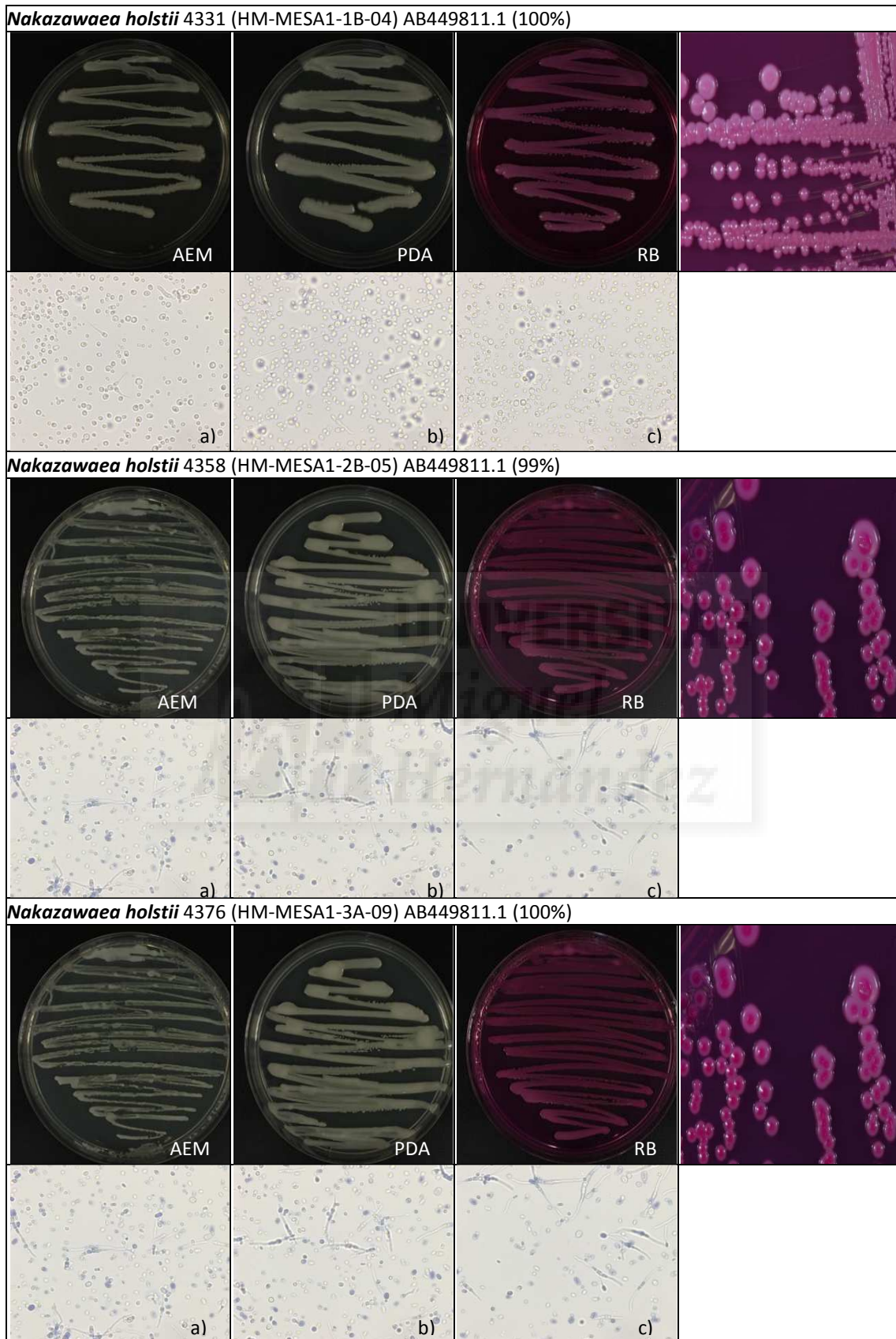


Figura 12h. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

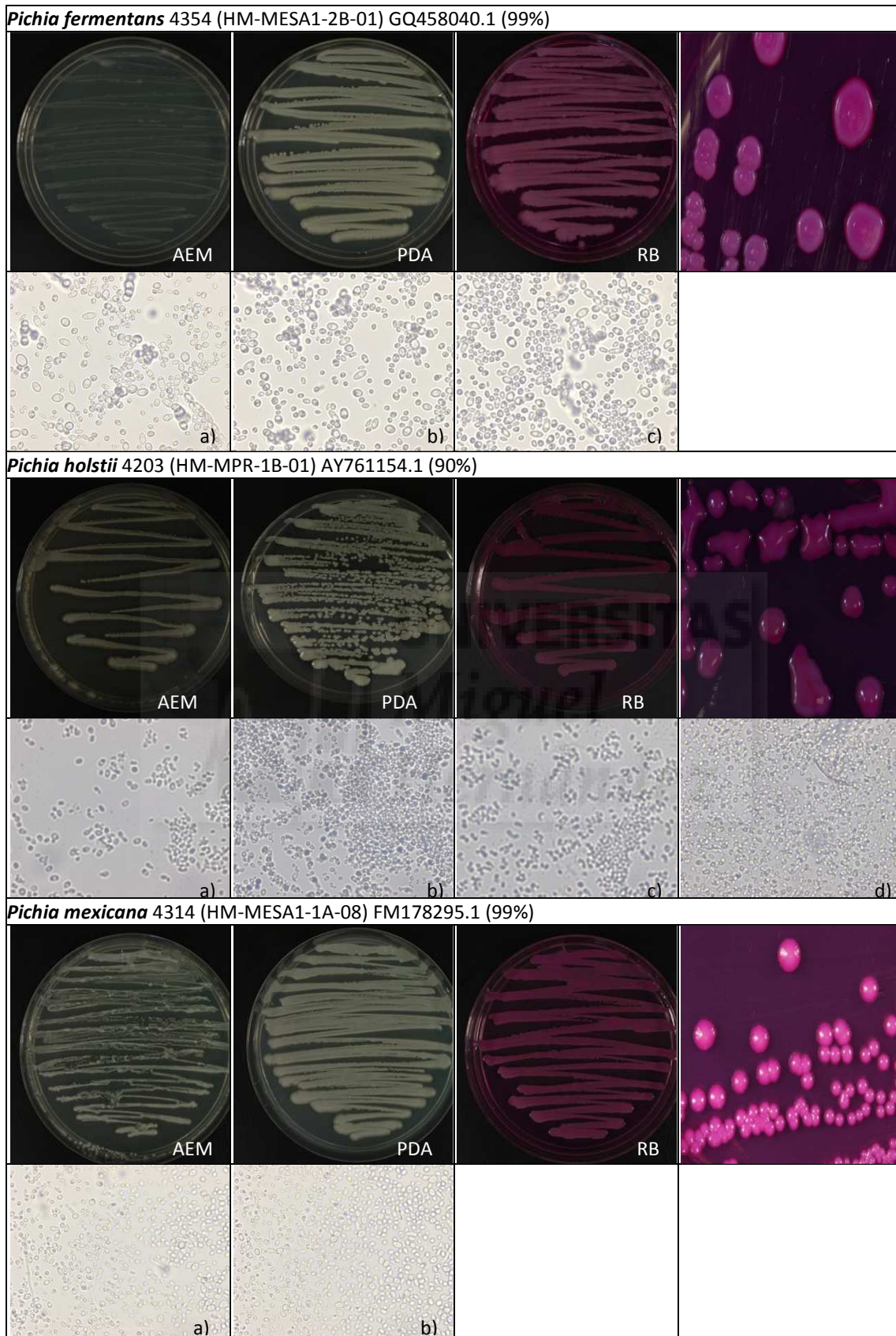


Figura 12i. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

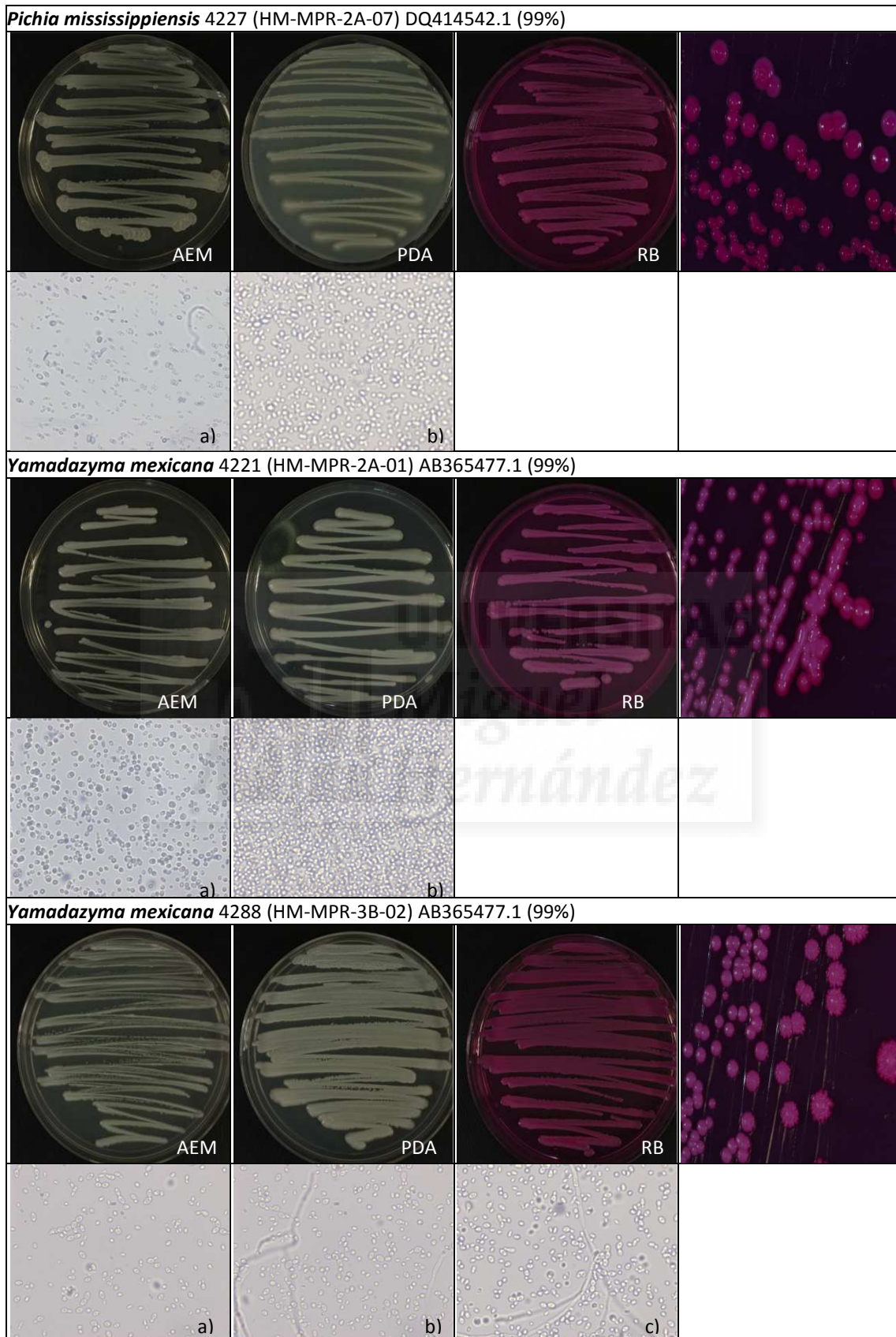


Figura 12j. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

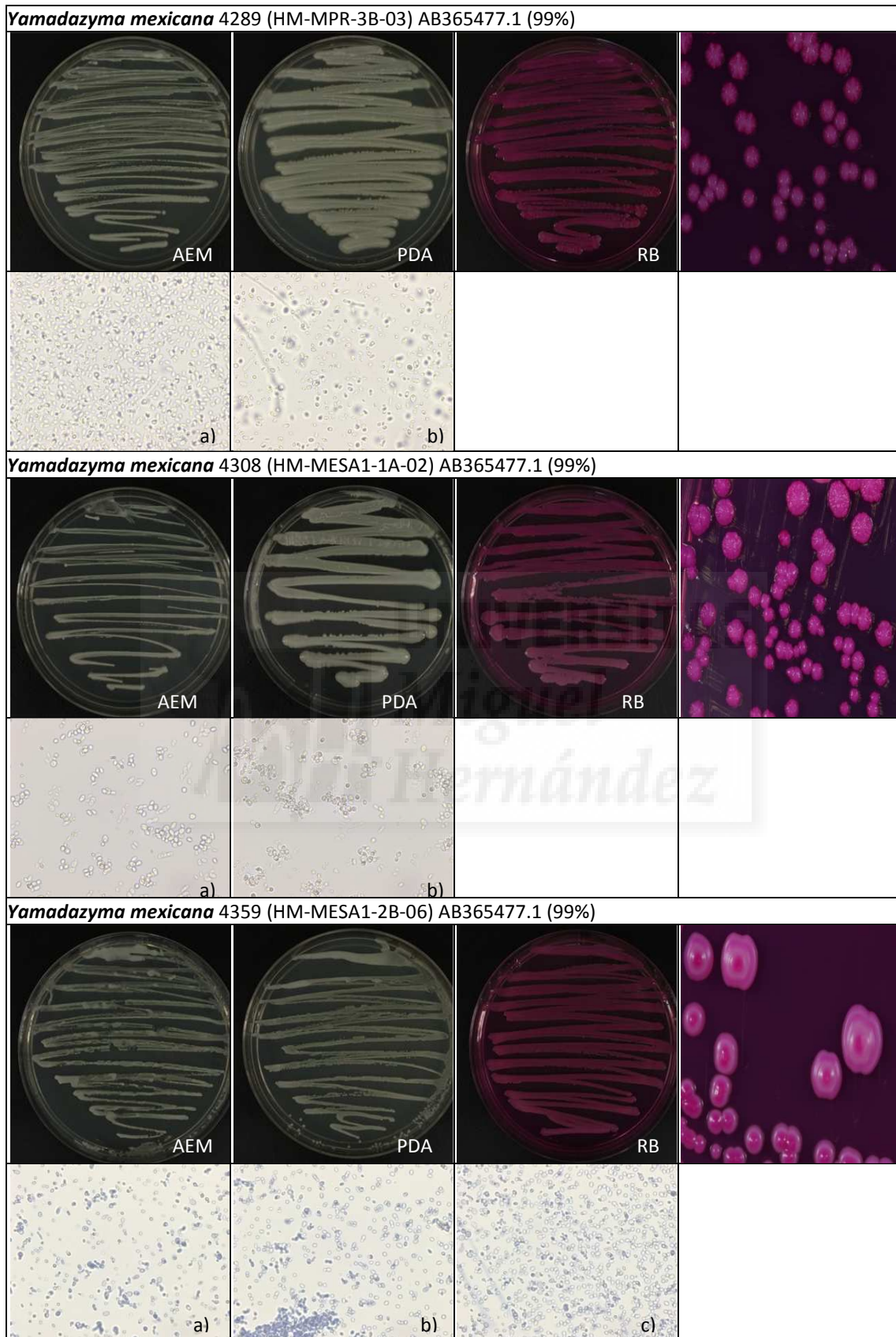


Figura 12k. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

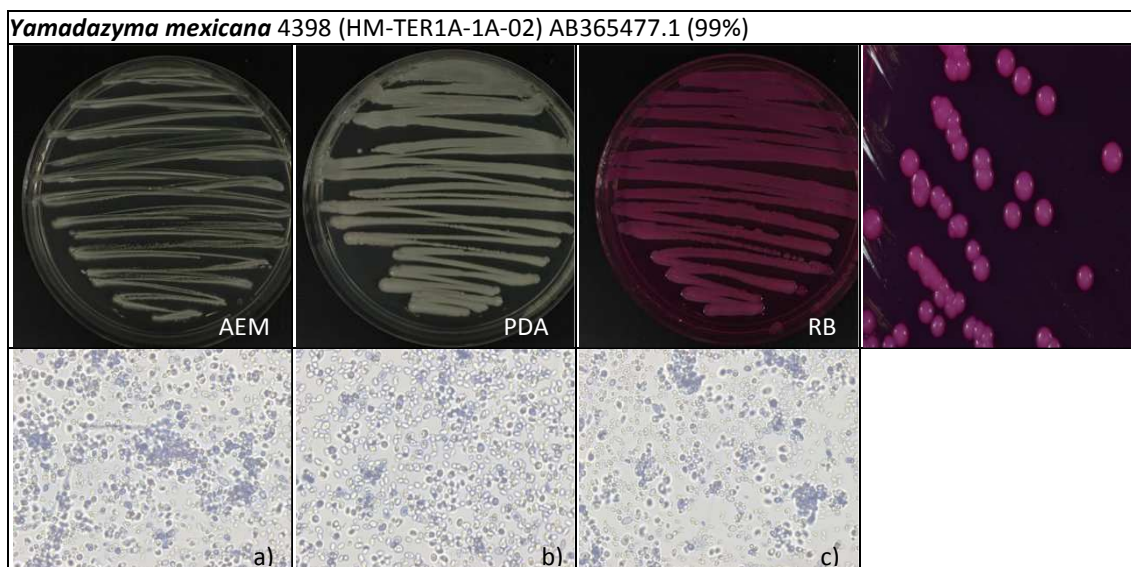


Figura 12I. Fenotipo de especies de la Clase Saccharomycetes Orden Saccharomycetales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

4.1.6. Phylum Ascomycota: Clase Sordariomycetes

La clase Sordariomycetes constituyó la primera clase en número de cepas, 107 cepas pertenecientes a 12 géneros y 19 especies estuvieron incluidas en dicha clase. Las especies *Gibellulopsis nigrescens* y *Fusarium oxysporum* fueron las que contaron con mayor número de representantes con 31 y 17 cepas, respectivamente (Tabla 12a). A éstas le siguieron en número de cepas *Scopulariopsis* y *Plectosphaerella*. *Acremonium* y *Fusarium* fueron los dos únicos géneros que contaron con más de una especie representada, en el resto de los casos sólo hubo una especie por género. *G. nigrescens* y *Microascus brevicaulis* fueron las dos especies de la clase más frecuentemente detectadas y en mayor número, constituyendo en algunos muestreos alrededor del 50% y más del 60%, respectivamente, de la población fúngica (Tabla 12b).

Tabla 12a. Hongos de la clase Sordariomycetes identificados*.

Id General	Ter	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
Orden Hypocreales						
4375	0	HM	HM-MESA1-3A-08	<i>Acremonium antarcticum</i>	99	DQ825970.1
5087	0	HM	HM-MESA4-3A-03	<i>Acremonium chrysogenum</i>	99	U57672.1
5106	0	HM	HM-MES5-1A-08	<i>Acremonium chrysogenum</i>	96	JX076982.1
4415	0	HM	HM-TER1A-1A-19	<i>Fusarium brachygibbosum</i>	100	GQ505450.1
4275	0	HM	HM-MPR-3A-07	<i>Fusarium delphinoides</i>	99	EU926231.1
4663	0	HM	HM-MESD1-3B-05	<i>Fusarium delphinoides</i>	100	EU926231.1
4694	0	HM	HM-MESA2-2B-04	<i>Fusarium delphinoides</i>	100	EU926231.1
4993	0	HM	HM-TER3A-3A-05	<i>Fusarium delphinoides</i>	99	EU926231.1
4995	0	HM	HM-TER3A-3A-07	<i>Fusarium delphinoides</i>	100	EU926231.1
4360	0	HM	HM-MESA1-2B-07	<i>Fusarium domesticum</i>	96	JQ434585.1
4209	0	HM	HM-MPR-1B-07	<i>Fusarium equiseti</i>	99	KC311517.1
4238	0	HM	HM-MPR-2A-18	<i>Fusarium equiseti</i>	99	JQ936153.1
4284	0	HM	HM-MPR-3A-16	<i>Fusarium equiseti</i>	100	JQ936153.1
4340	0	HM	HM-MESA1-1B-13	<i>Fusarium equiseti</i>	99	EU595566.1

Id General	Ter	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
4439	0	HM	HM-TER1A-1B-21	<i>Fusarium equiseti</i>	99	EU595566.1
4200	0	HM	HM-MPR-1A-16	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	AF322074.1
4208	0	HM	HM-MPR-1B-06	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	GU566301.1
4243	0	HM	HM-MPR-2A-23	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4267	0	HM	HM-MPR-2B-21	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4283	0	HM	HM-MPR-3A-15	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4304	0	HM	HM-MPR-3B-18	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	AF322074.1
4309	0	HM	HM-MESA1-1A-03	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4324	0	HM	HM-MESA1-1A-18	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	AF322074.1
4325	0	HM	HM-MESA1-1A-19	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4326	1	HM	HM-MESA1-1A-20	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	EF495230.1
4393	0	HM	HM-MESA1-3B-10	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4470	0	HM	HM-TER1A-3A-04	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4535	0	HM	HM-TER1B-2A-14	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4608	0	HM	HM-MESD1-1A-15	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	AF322074.1
4634	0	HM	HM-MESD1-2A-12	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4744	0	HM	HM-TER2A-1B-18	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	GU136492.1
4819	0	HM	HM-TER2B-3A-10	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	JX915255.1
4215	0	HM	HM-MPR-1B-13	<i>Fusarium solani</i>	100	AM412594.1
4218	0	HM	HM-MPR-1B-16	<i>Fusarium solani</i>	98	JX173101.1
4242	0	HM	HM-MPR-2A-22	<i>Fusarium solani</i>	99	FJ719812.1
4261	1	HM	HM-MPR-2B-15	<i>Fusarium solani</i>	99	FJ719812.1
4965	0	HM	HM-TER3A-1B-05	<i>Fusarium solani</i>	99	KC254048.1
4554	1	HM	HM-TER1B-2B-13	<i>Hypocrea viridescens</i>	98	GU566274.1
4225	0	HM	HM-MPR-2A-05	<i>Trichoderma atroviride</i>	100	HM176575.1
4310	0	HM	HM-MESA1-1A-04	<i>Trichoderma atroviride</i>	100	HM176575.1
4315	0	HM	HM-MESA1-1A-09	<i>Trichoderma atroviride</i>	100	HM176575.1
4327	0	HM	HM-MESA1-1A-21	<i>Trichoderma atroviride</i>	100	HM176575.1
Orden Microscales						
5079	0	HM	HM-MESA4-2B-02	<i>Graphium putredinis</i>	99	FJ914685.1
5261	0	HM	HM-MAD1-1B-06	<i>Microascus cirrosus</i>	99	JQ906771.1
5019	0	HM	HM-MESD3-1B-08	<i>Scedosporium prolificans</i>	99	FJ713085.1
5036	0	HM	HM-MESD3-3A-04	<i>Scedosporium prolificans</i>	99	FJ713085.1
5089	0	HM	HM-MESA4-3A-05	<i>Scedosporium prolificans</i>	99	FJ713089.1
4216	0	HM	HM-MPR-1B-14	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	98	KC311514.1
4276	0	HM	HM-MPR-3A-08	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	99	EU821476.1
4290	0	HM	HM-MPR-3B-04	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	99	EU436681.1
4299	0	HM	HM-MPR-3B-13	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	98	EU436681.1
4338	0	HM	HM-MESA1-1B-11	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	99	EU821476.1
4378	0	HM	HM-MESA1-3A-11	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	99	EU436681.1
4602	0	HM	HM-MESA4-1A-09	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	98	EU436681.1
4615	0	HM	HM-MESD1-1B-07	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	99	EU436681.1
4784	0	HM	HM-TER2B-1A-02	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	98	KC311514.1
4875	0	HM	HM-MESD2-3A-01	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	99	EU436681.1
4877	0	HM	HM-MESD2-3A-03	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	99	EU436681.1
4984	0	HM	HM-TER3A-2B-02	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	98	EU436681.1
5349	0	HM	HM-PRF-3B-06	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	99	EU821476.1
5078	0	HM	HM-MESA4-2B-01	<i>Scopulariopsis hibernica</i>	98	FJ946484.1
5083	0	HM	HM-MESA4-2B-06	<i>Scopulariopsis hibernica</i>	99	FJ946484.1
Sin Orden asignado						
4191	0	HM	HM-MPR-1A-07	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
4194	0	HM	HM-MPR-1A-10	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
4198	0	HM	HM-MPR-1A-14	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
4232	0	HM	HM-MPR-2A-12	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	100	HE972037.1
4234	0	HM	HM-MPR-2A-14	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	100	HE972037.1
4279	0	HM	HM-MPR-3A-11	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	KC156644.1
4298	0	HM	HM-MPR-3B-12	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	100	HE972037.1
4319	0	HM	HM-MESA1-1A-13	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	98	HE972037.1
4380	0	HM	HM-MESA1-3A-13	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	100	HE972037.1
4383	0	HM	HM-MESA1-3A-16	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
4426	0	HM	HM-TER1A-1B-08	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	96	HE972037.1
4434	0	HM	HM-TER1A-1B-16	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	96	HE972037.1
4437	0	HM	HM-TER1A-1B-19	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
4516	0	HM	HM-TER1B-1B-13	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	95	HE972037.1
4549	0	HM	HM-TER1B-2B-08	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	100	HE972037.1

Id General	Ter	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
4556	0	HM	HM-TER1B-2B-15	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	98	HE972037.1
4563	1	HM	HM-TER1B-3A-06	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	98	HE972037.1
4564	0	HM	HM-TER1B-3A-07	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	97	HE972037.1
4604	0	HM	HM-MESD1-1A-11	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
4672	1	HM	HM-MESA2-1A-07	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	98	HE972037.1
4767	0	HM	HM-TER2A-3A-02	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	96	HE972037.1
4778	0	HM	HM-TER2A-3B-04	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
4781	0	HM	HM-TER2A-3B-07	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	96	HE972037.1
4798	0	HM	HM-TER2B-2A-06	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	96	HE972037.1
4840	0	HM	HM-MESD2-1A-12	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
4916	0	HM	HM-MESA3-1B-10	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	95	HE972037.1
4968	0	HM	HM-TER3A-1B-08	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	96	HE972037.1
4976	0	HM	HM-TER3A-2A-06	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
5000	0	HM	HM-TER3A-3B-05	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
5374	1	HT	HT-TER1B-3A-03	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	99	HE972037.1
5389	1	HT	HT-MESD1-2A-07	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	100	HE972037.1
4430	0	HM	HM-TER1A-1B-12	<i>Verticillium dahliae</i>	99	DQ282123.1
4839	0	HM	HM-MESD2-1A-11	<i>Verticillium dahliae</i>	99	HQ839784.1
Orden Xylariales						
4246	0	HM	HM-MPR-2A-26	<i>Microdochium nivale</i>	100	FJ792588.1
4262	0	HM	HM-MPR-2B-16	<i>Microdochium nivale</i>	100	FJ792588.1
4212	0	HM	HM-MPR-1B-10	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	99	AB469880.1
4244	0	HM	HM-MPR-2A-24	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	99	EU594566.1
4257	1	HM	HM-MPR-2B-11	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	99	AB469880.1
4263	1	HM	HM-MPR-2B-17	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	99	JQ796755.1
4433	0	HM	HM-TER1A-1B-15	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	99	AJ246154.1
4674	0	HM	HM-MESA2-1A-09	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	99	AB469880.1
4815	0	HM	HM-TER2B-3A-06	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	98	AB469880.1
4826	0	HM	HM-TER2B-3B-07	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	99	AB469880.1
4918	0	HM	HM-MESA3-1B-12	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	99	AB469880.1
4988	0	HM	HM-TER3A-2B-06	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	99	AB469880.1

*Notas: Id General, número de identificación de la cepa; Termofilia: 0 mesófilo, 1 termotolerante mesófilo, 2 termotolerante termófilo, 3 termófilo; Programa, programa de aislamiento, HM-hongos mesófilos, HT-hongos termófilos; Cepa tipo, nomenclatura de la primera cepa aislada en el proceso (ver Material y Métodos, apartado 3.1); Identidad, especie o género con el que la secuencia de la cepa es más similar; % Identidad, las cepas cuya secuencia tiene una homología (% Identidad) con la depositada en el Genbank NCBI inferior al 95% pueden ser catalogadas sólo a nivel de género; No. Acceso, número de acceso en el GenBank NCBI de la secuencia con la que se obtuvo la homología de cada cepa.

Tabla 12b. Abundancia de las especies de la clase Sordariomycetes durante el compostaje*

Identidad	MUESTREO																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Acremonium antarcticum</i>		0,5		1,0			2,2					0,2	0,5	1,4					
<i>Acremonium chrysogenum</i>												2,5		4,3	6,7	2,0	0,2	6,1	2,3
<i>Fusarium delphinoides</i>	0,7			1,5	1,0	2,9	0,4		1,0	0,3	3,1								
<i>Fusarium oxysporum</i>	3,4	10,3	7,0	6,4	1,3	1,9	4,4	0,3		1,2		1,0			1,0				1,5
<i>Gibberella intricans</i>	4,5	1,0	7,0	2,7	1,0	1,9		0,3	3,0	0,6		0,2							
<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	9,0	9,2	24,4	12,4	4,6	27,9	23,1	11,4	20,5	11,5	11,9	17,6	33,9	19,9	10,1	29,4	9,1	0,3	2,3
<i>Graphium putredinis</i>												9,9							
<i>Haematonectria haematococca</i>	1,9			0,5			2,9				1,2	0,7							
<i>Hypocrea viridescens</i>				0,2															
<i>Microascus brevicaulis</i>	10,7	6,2	4,9	30,5	65,1	36,5	36,4	59,0	57,9	63,7	67,4	18,1	49,9	62,1	59,6	39,6	2,8	5,5	4,6
<i>Microascus cirrosus</i>																		1,1	
<i>Monographella cucumerina</i>	2,1	0,5	1,4	5,5		2,9	7,3	1,4	3,0	12,4	5,6	1,5	1,5	6,2	0,8		1,6		
<i>Monographella nivalis</i>	0,6																		
<i>Scedosporium prolificans</i>												0,7	1,0	3,3	20,1	17,3	9,8		22,4
<i>Scopulariopsis hibernica</i>												41,4				1,0	68,6	82,3	61,9
<i>Trichoderma parceramosum</i>	1,1	6,7						3,0											
<i>Trichothecium domesticum</i>		0,5		1,2		1,0	0,4	0,3											
<i>Verticillium dahliae</i>			0,3		1,0				0,5										

*Notas: Se indica la abundancia como el porcentaje respecto al recuento total de hongos. Muestréos realizados durante el compostaje. *Haematonectria haematococca* sinónimo de *Fusarium solani*; *Gibberella intricans* sinónimo de *Fusarium equiseti*; *Microascus brevicaulis* sinónimo de *Scopulariopsis brevicaulis*; *Monographella cucumerina* sinónimo de *Plectosphaerella cucumerina*; *Monographella nivalis* sinónimo de *Microascus nivale*; *Trichoderma parceramosum* sinónimo de *Trichoderma atroviridae*; *Trichothecium domesticum* sinónimo de *Fusarium domesticum*.

En las Figuras 13a-aj se muestran los fenotipos de las cepas pertenecientes a la clase Sordariomycetes. Las dos especies del género *Acremonium*, *A. antarcticum* y *A. chrysogenum* tuvieron un micelio blanquecino en los tres medios de cultivo (Figura 13a). Como todos los representantes del género, las tres cepas tuvieron lento crecimiento lento y evolucionaron de colonias cremosas a filamentosas al prolongar la incubación. Las 34 cepas de *Fusarium* mostraron una amplia variedad de fenotipos, tanto interespecies como intraespecie (Figura 13b-l). Además, se observaron notables variaciones en el crecimiento en los tres medios de cultivo. En general, el micelio fue blanco. Los conidios fueron unicelulares, globosos o cilíndricos y, mayoritariamente, agregados en el apéndice de las fiálidas. La única cepa identificada como *Hypocrea viridescens*, cuyo nombre actualmente aceptado es *Trichoderma paraviridescens*, tuvo un fenotipo macroscópico y microscópico que concuerdan más con los correspondientes a especies del género *Aspergillus* (Figura 13l). Por ello, es preciso determinar si el hongo estaba contaminado o hubo algún error en la identificación. Las cuatro cepas identificadas como *Trichoderma atroviridae* (Figura 13m-n) crecieron dando lugar a un micelio blanquecino aterciopelado. La cepa de *Graphium putredinis* tuvo un escaso crecimiento en AEM y PDA mostrando un micelio blanquecino (Figura 13o). De igual forma, las tres cepas adscritas a la especie *Scedosporium prolificans* tuvieron un crecimiento muy lento generando escaso micelio verdoso (Figuras 13o-p). Las 13 cepas identificadas como *Scopulariopsis brevicaulis* mostraron un fenotipo muy diverso, con micelio blanco o marrón, y verde en algunos casos, dependiendo de la cepa y el medio de cultivo (Figuras 13q-u). Cuando el micelio fue verde, la preparación al microscopio reveló la existencia de conidióforos típicos del género *Aspergillus*, por lo que es preciso determinar la posible contaminación. Las 31 cepas de *Gibellulopsis nigrescens* ofrecieron en general un micelio blanquecino (Figuras 13 w-ae), y en las ocasiones en que fue verde, el análisis microscópico pareció confirmar la presencia del contaminante *Aspergillus*. Las dos cepas de *Verticillium dahliae* tuvieron un fenotipo blanquecino similar (Figura 13af). Esto no ocurrió en el caso de *Microdochium nivale*, una de cuyas cepas fue blanquecina, mientras que la otra fue marrón (Figura 13ag). Las diez cepas de *Plectosphaerella cucumerina* ofrecieron morfotipos coloniales muy similares, de color blanco a marrón y con aspecto cremoso (Figuras 13ah-j).

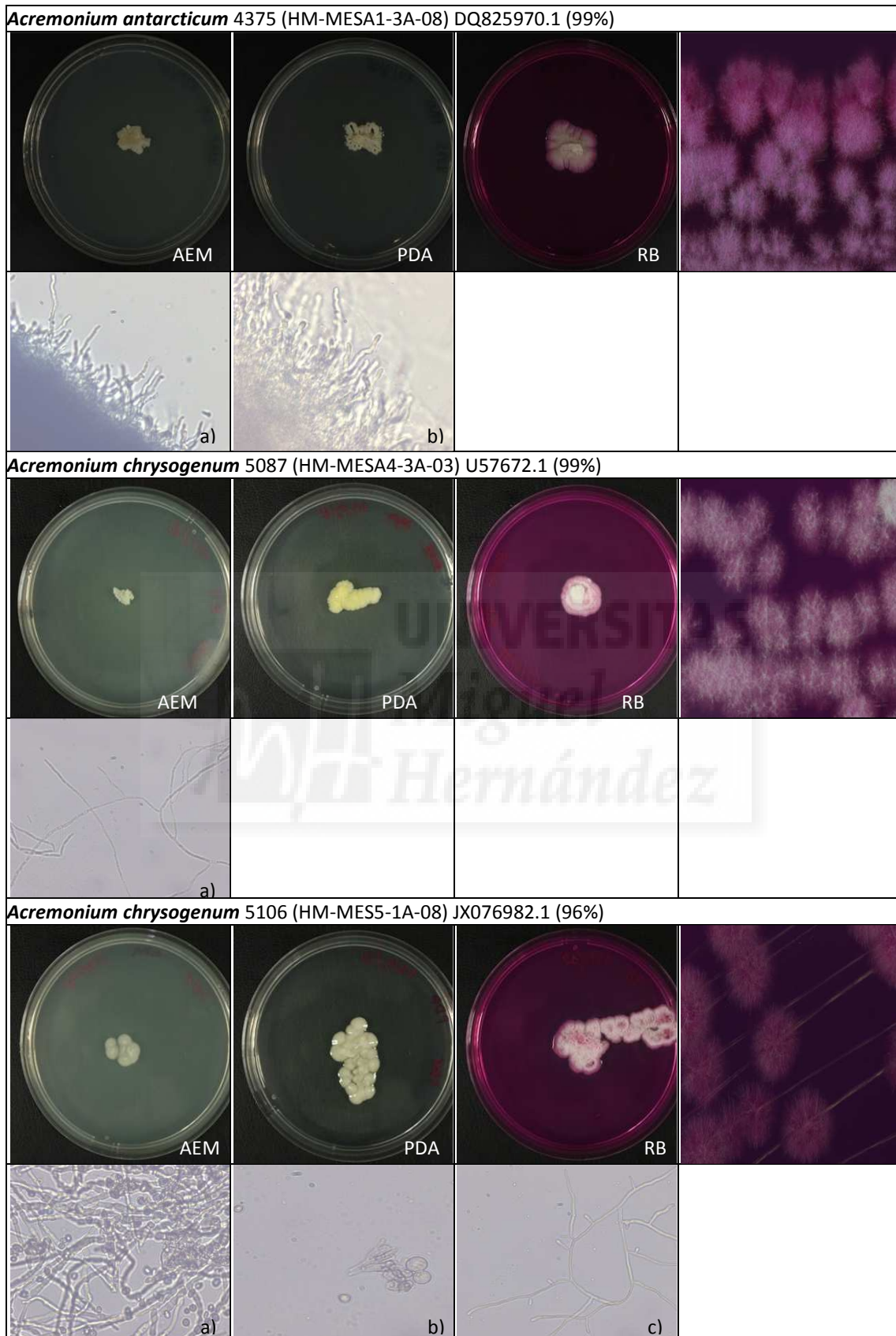


Figura 13a. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

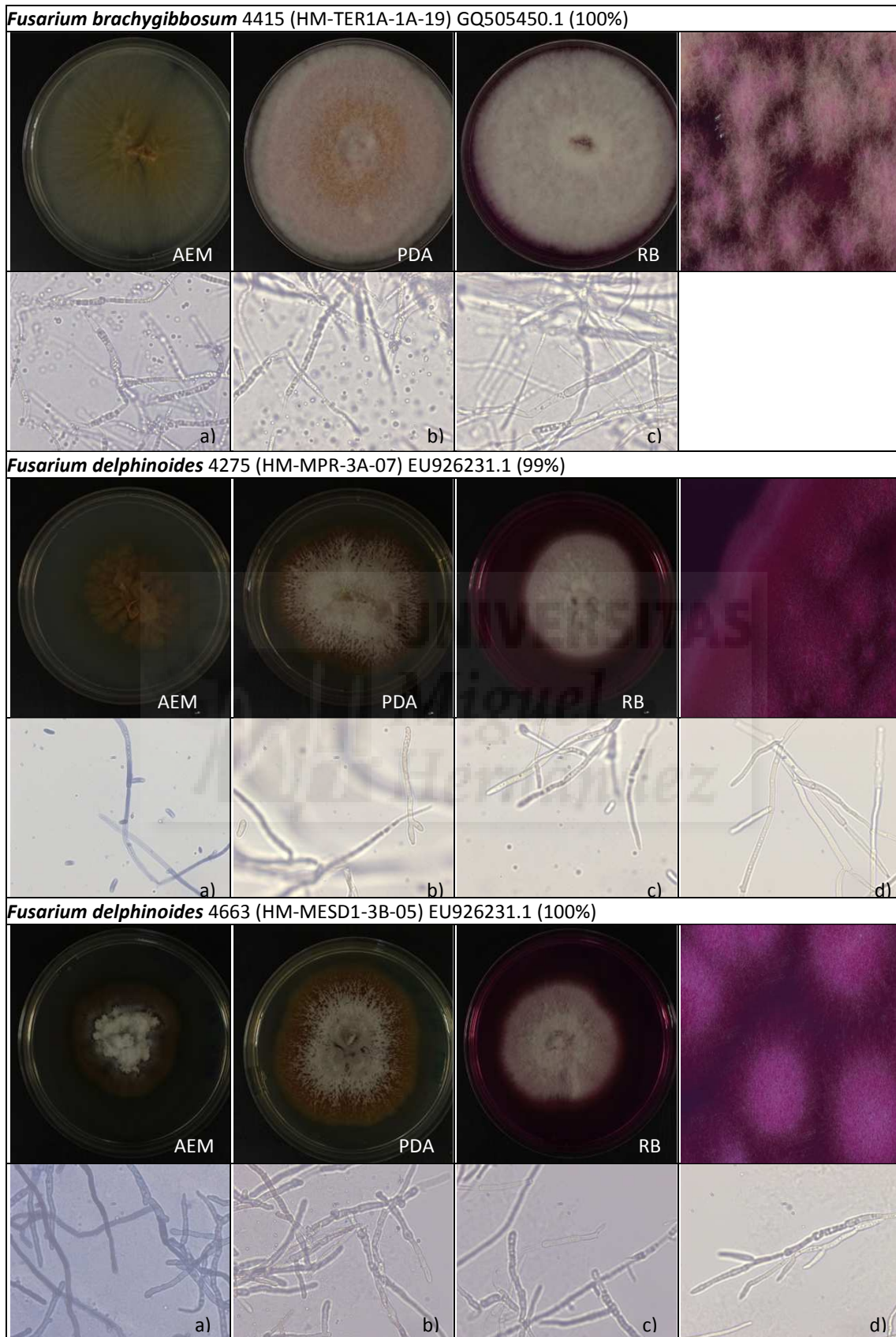


Figura 13b. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

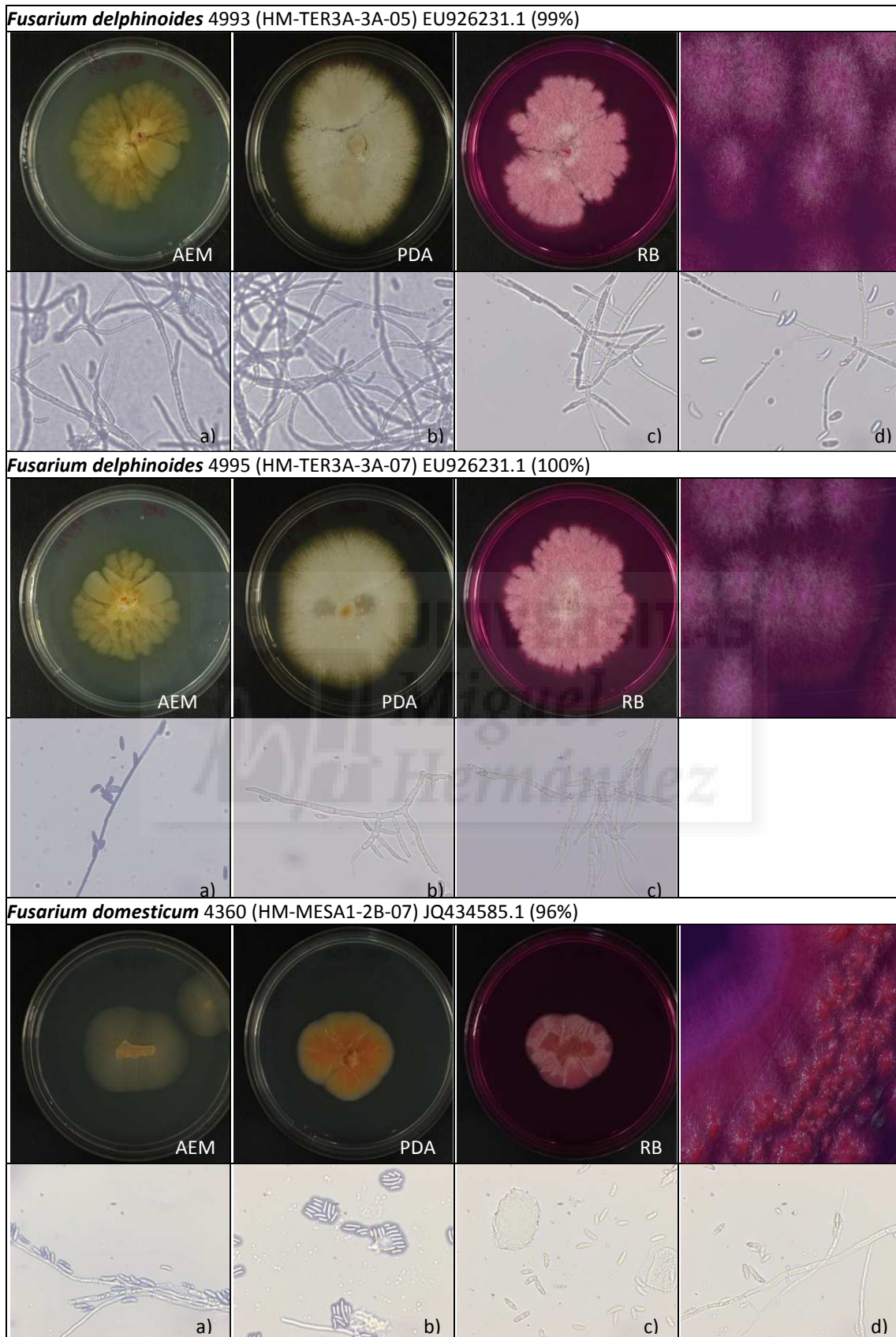


Figura 13c. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

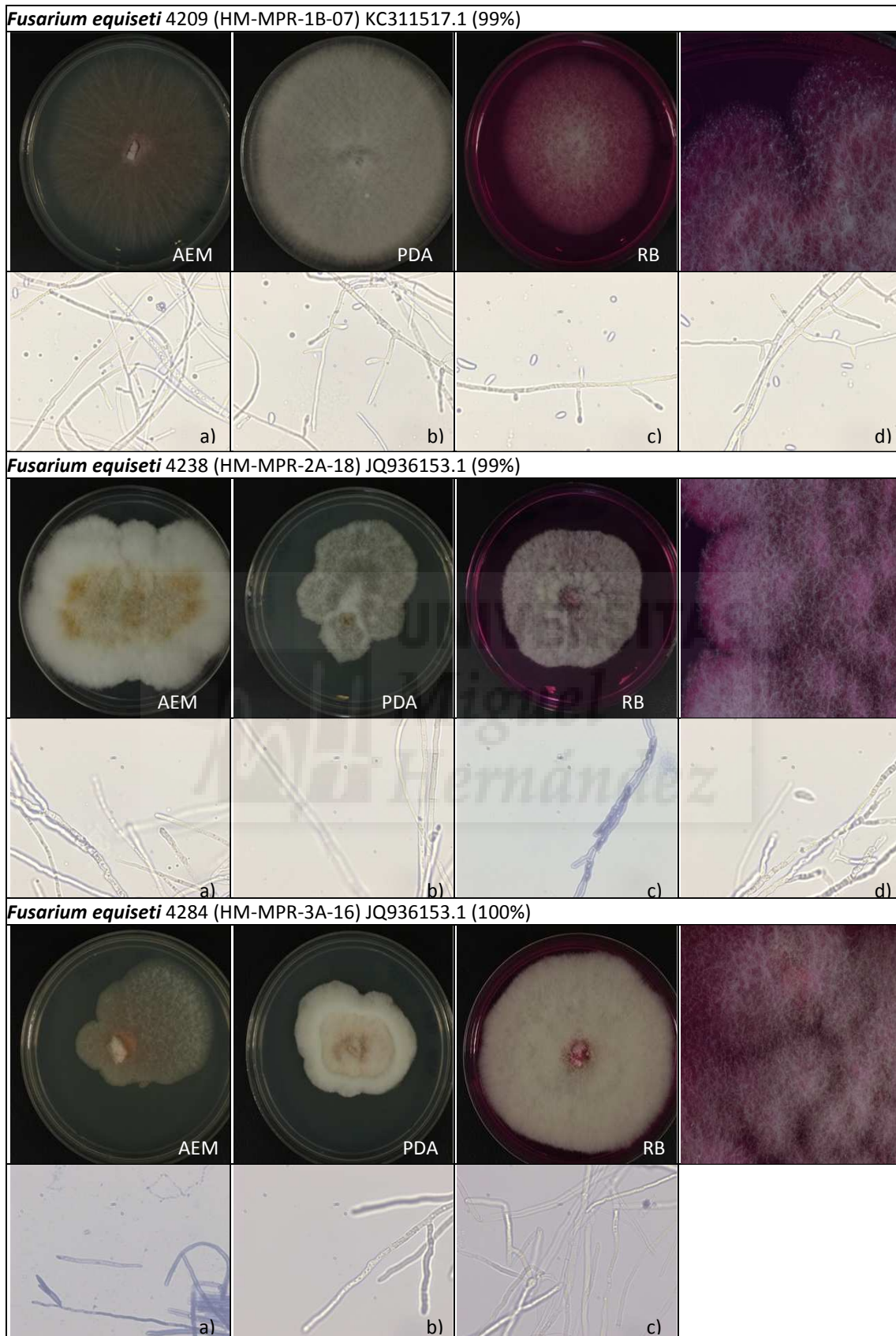


Figura 13d. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

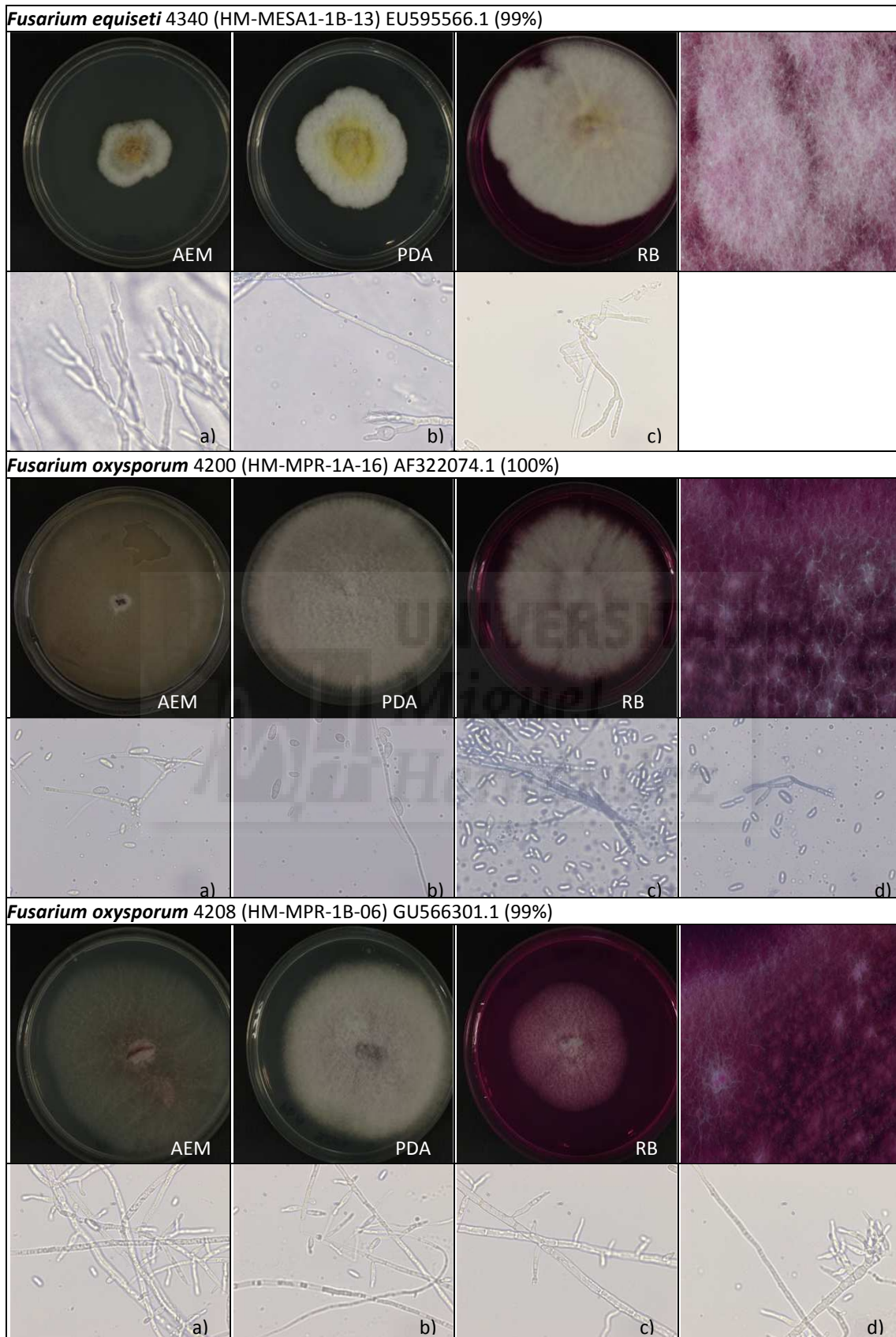


Figura 13e. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

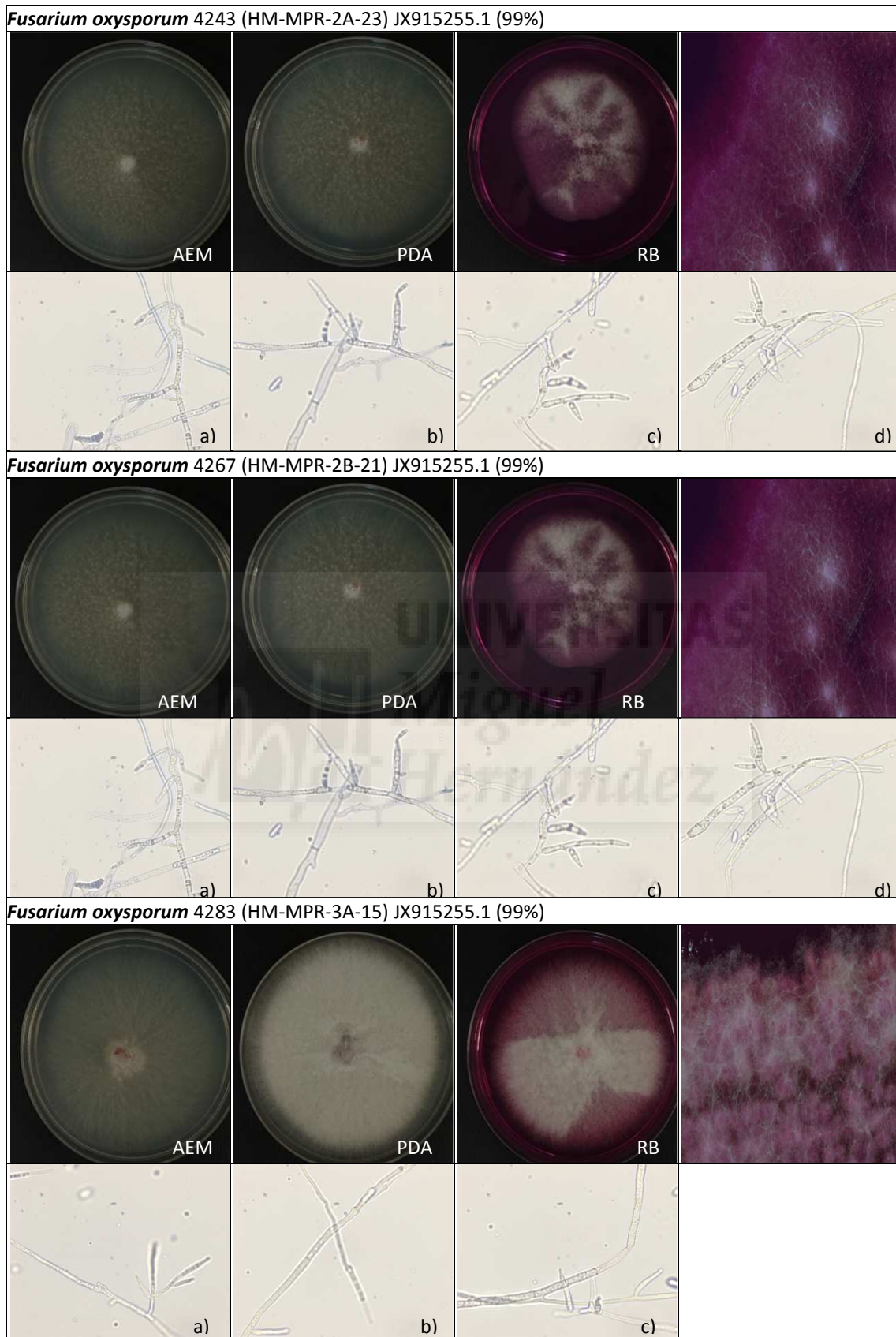


Figura 13f. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

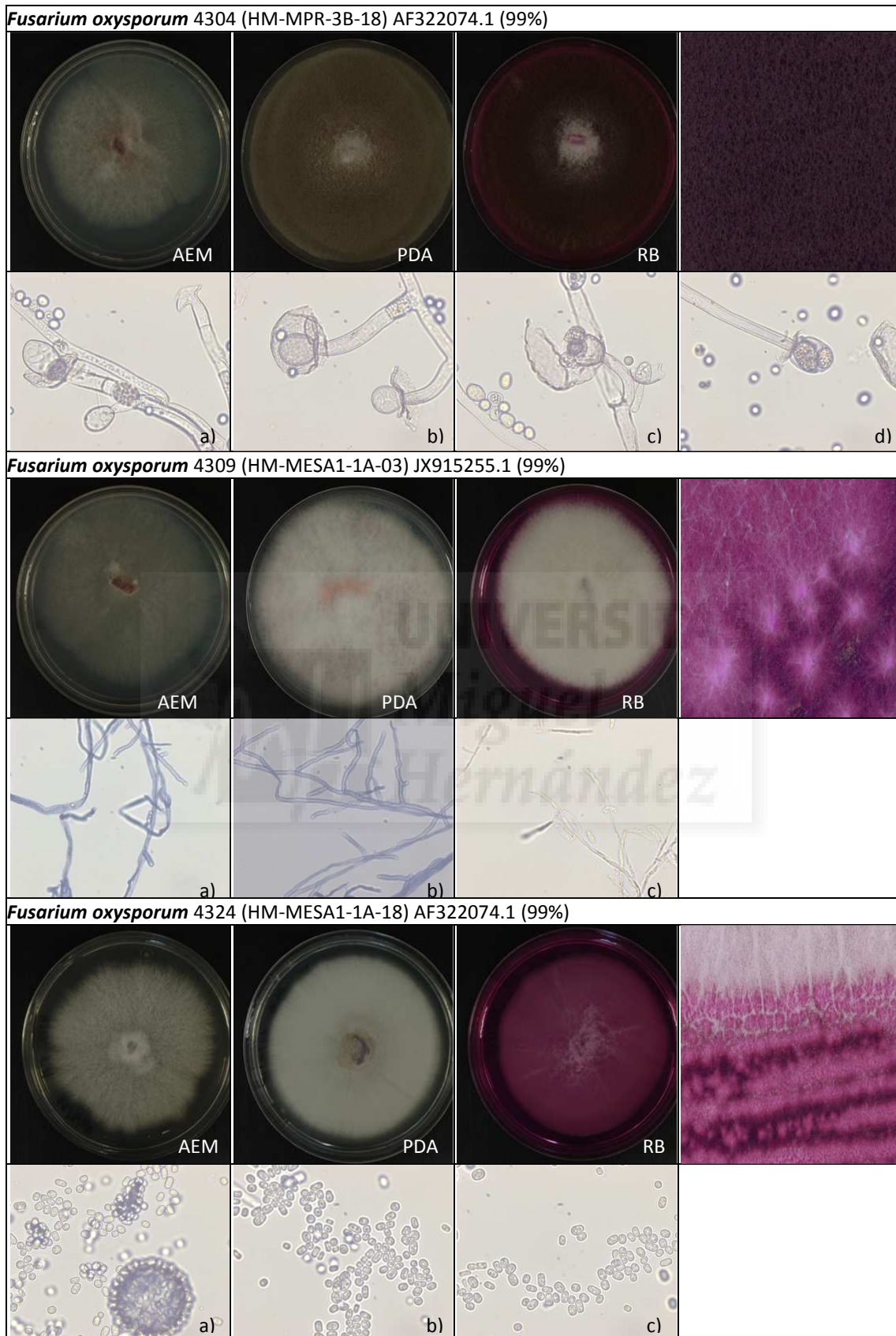


Figura 13g. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

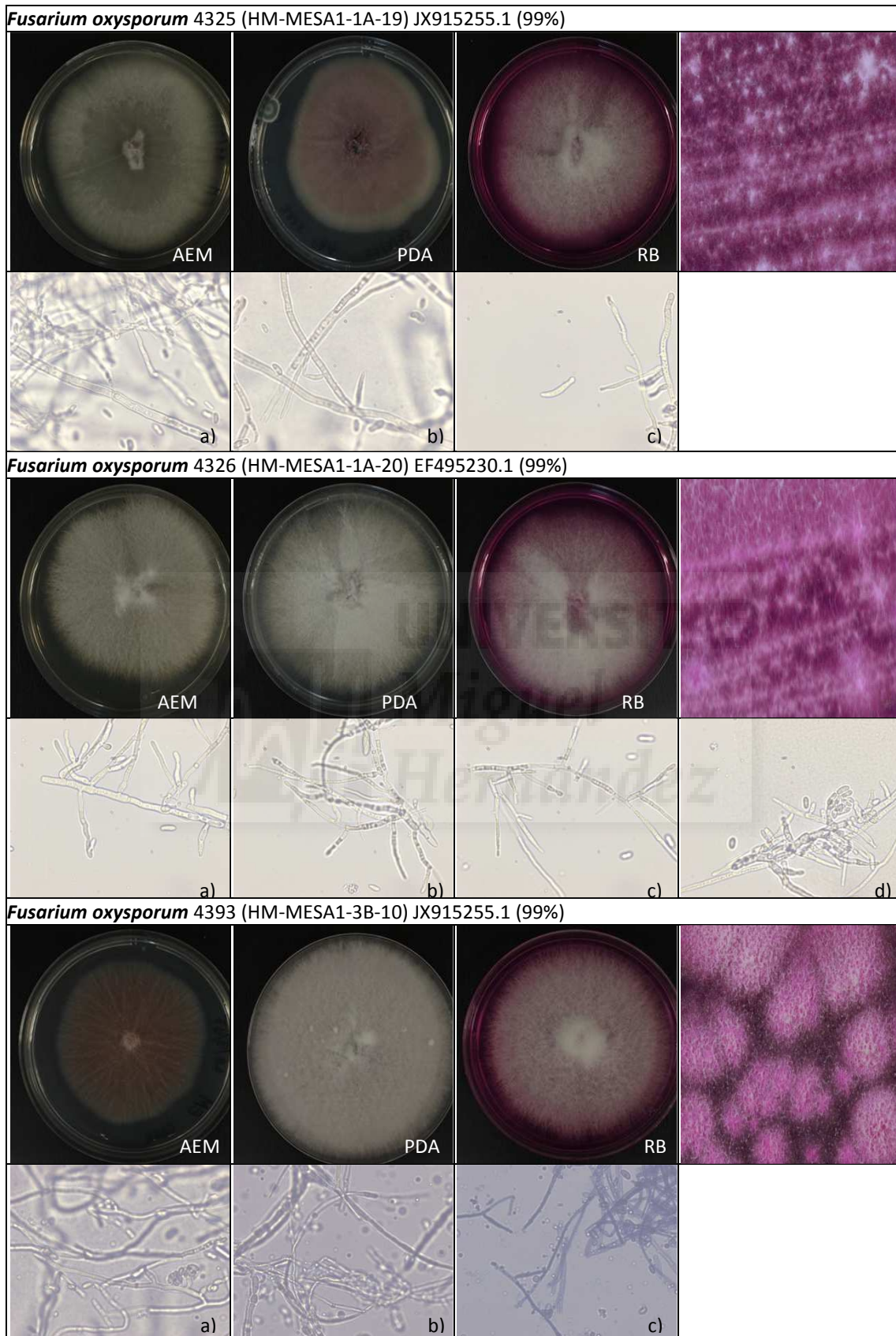


Figura 13h. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

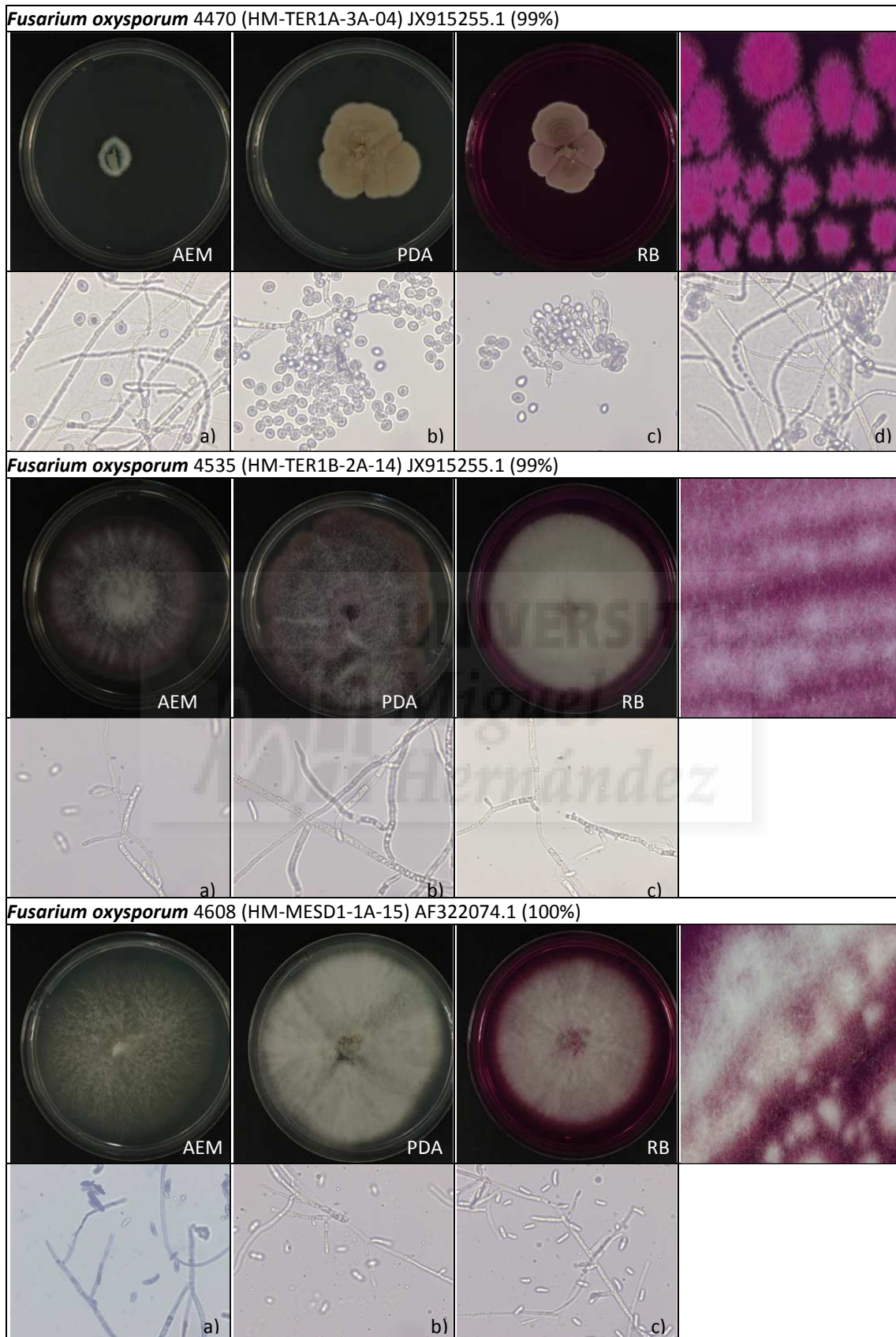


Figura 13i. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

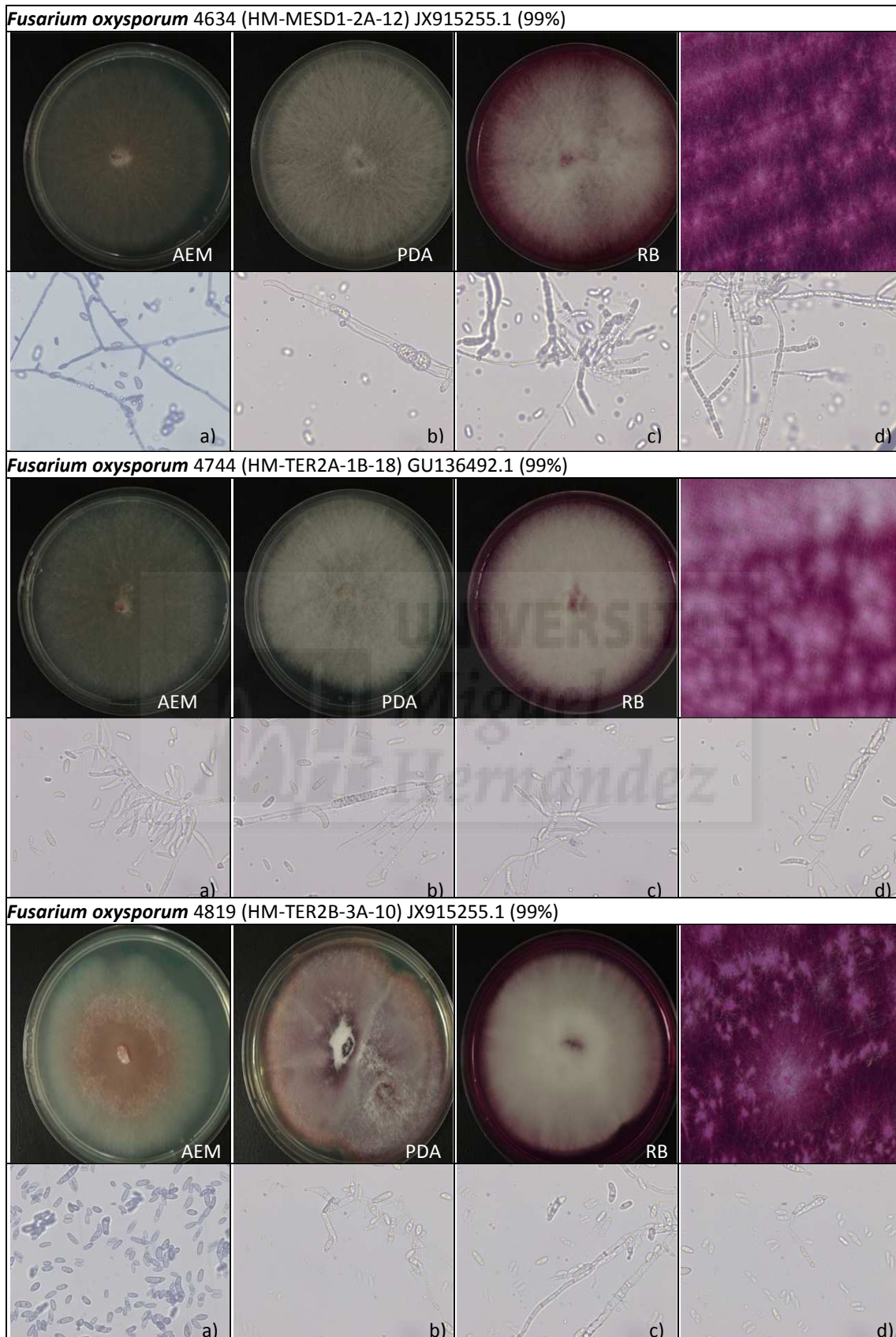


Figura 13j. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior)

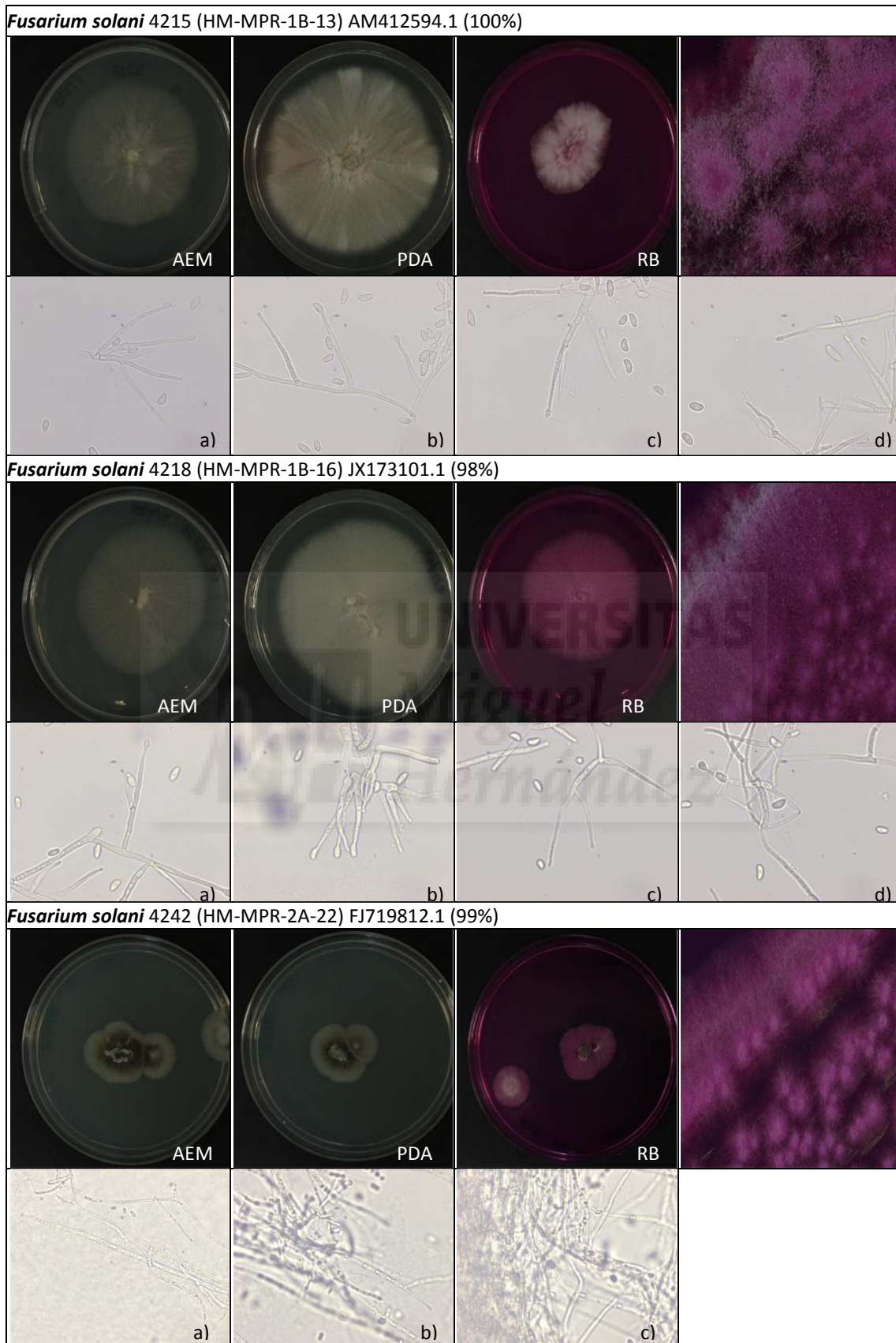


Figura 13k. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

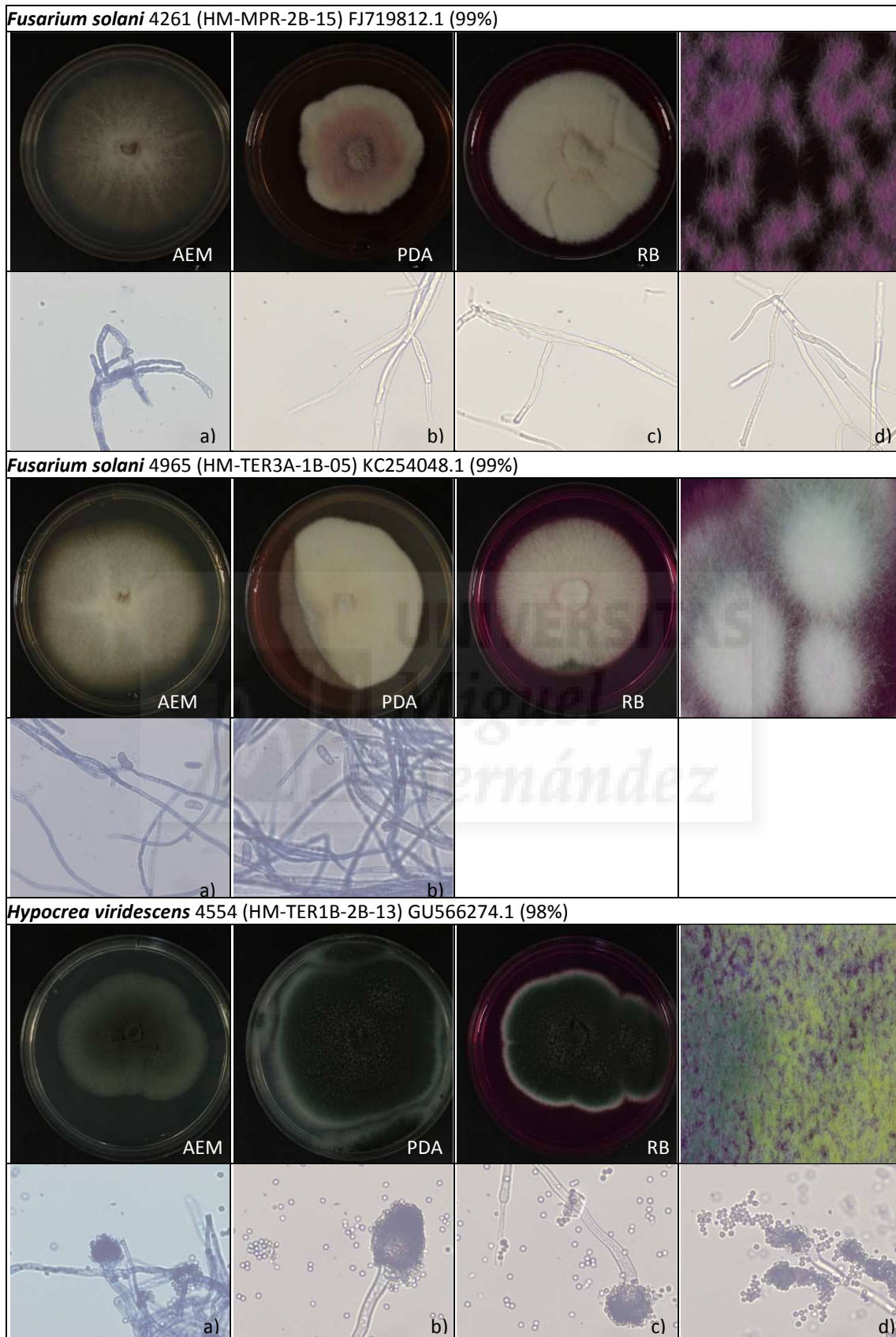


Figura 13l. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

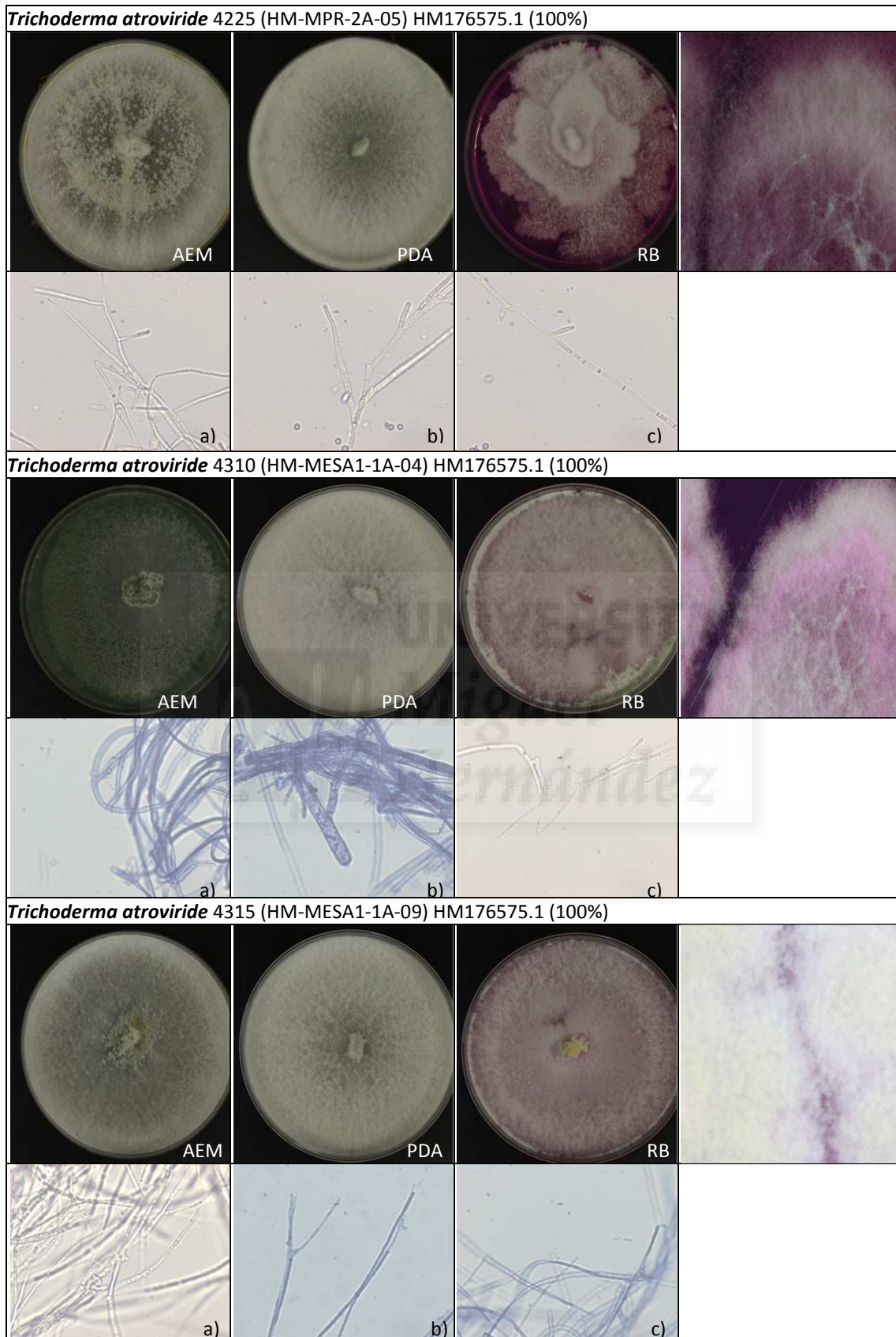


Figura 13m. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

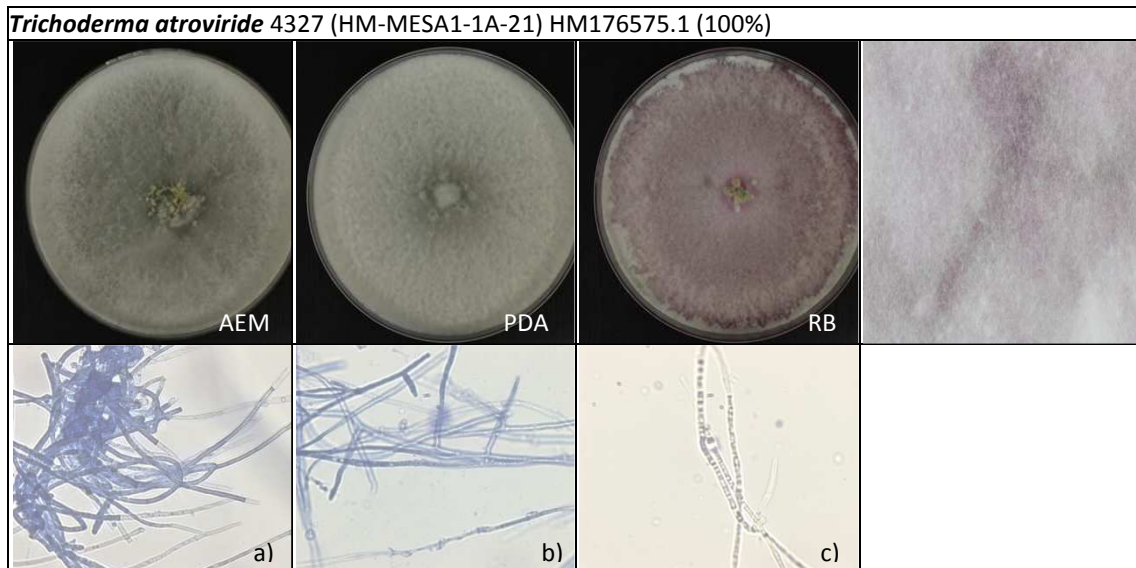


Figura 13n. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Hypocreales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior)

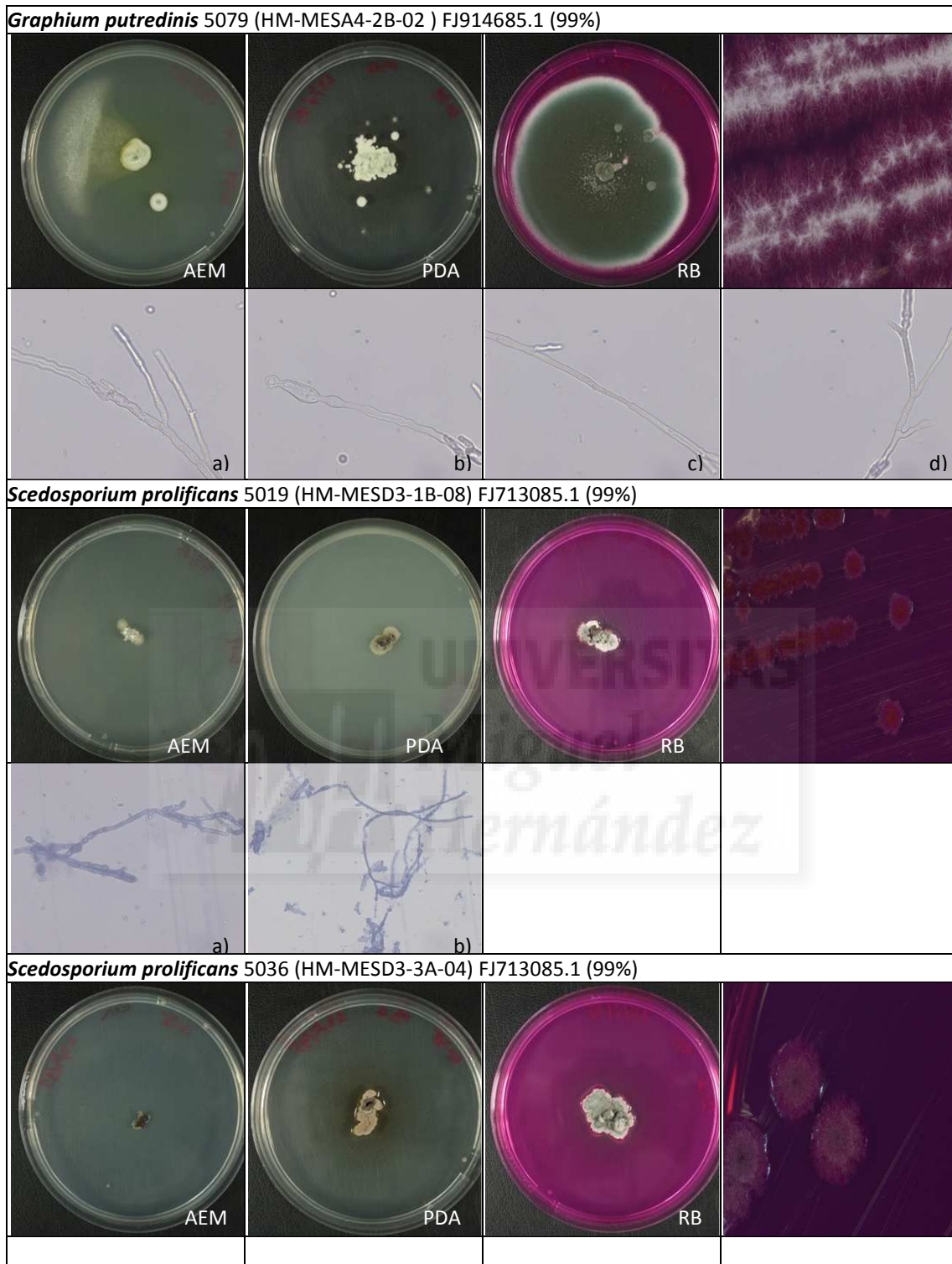


Figura 13o. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Microascales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

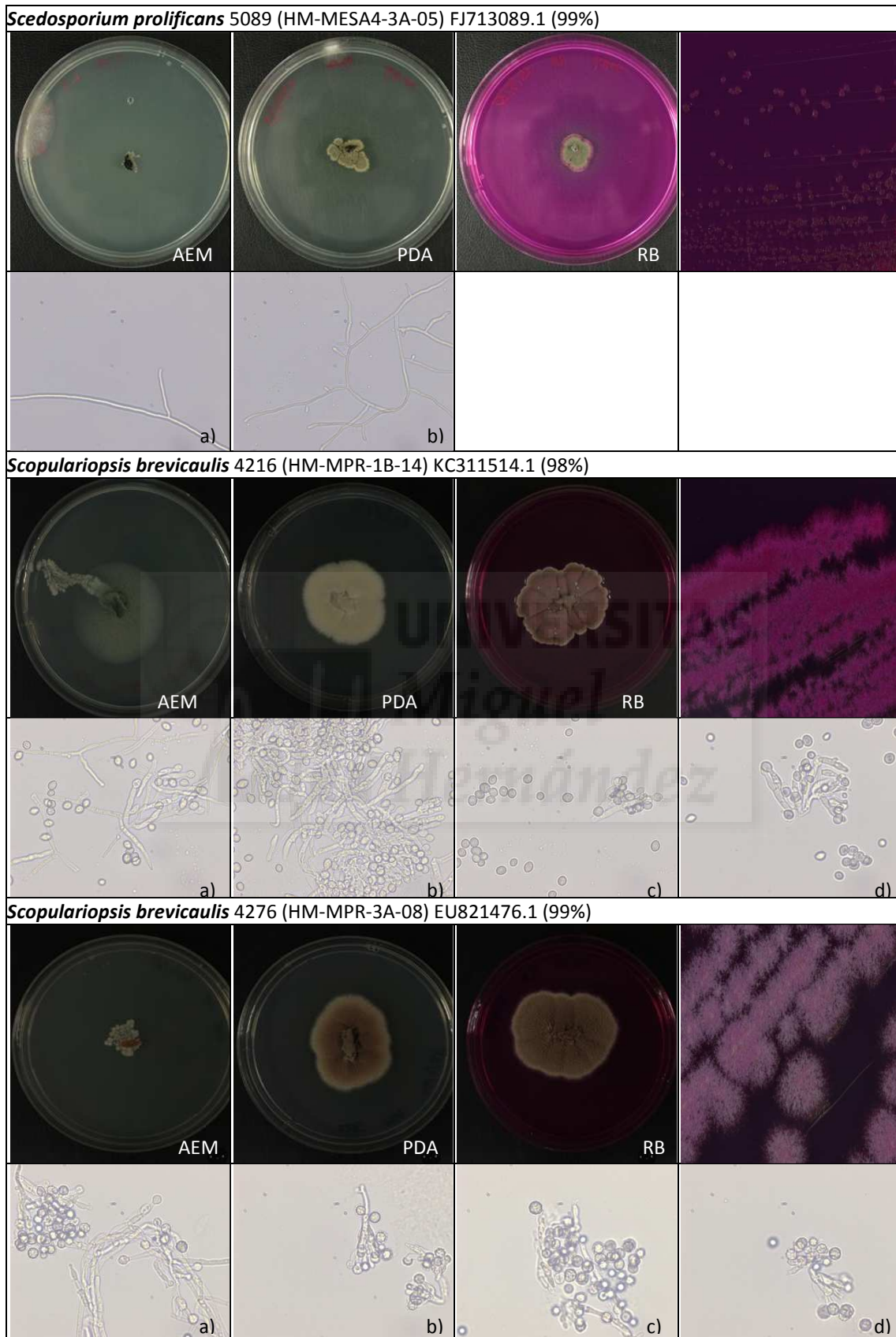


Figura 13p. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Microascales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

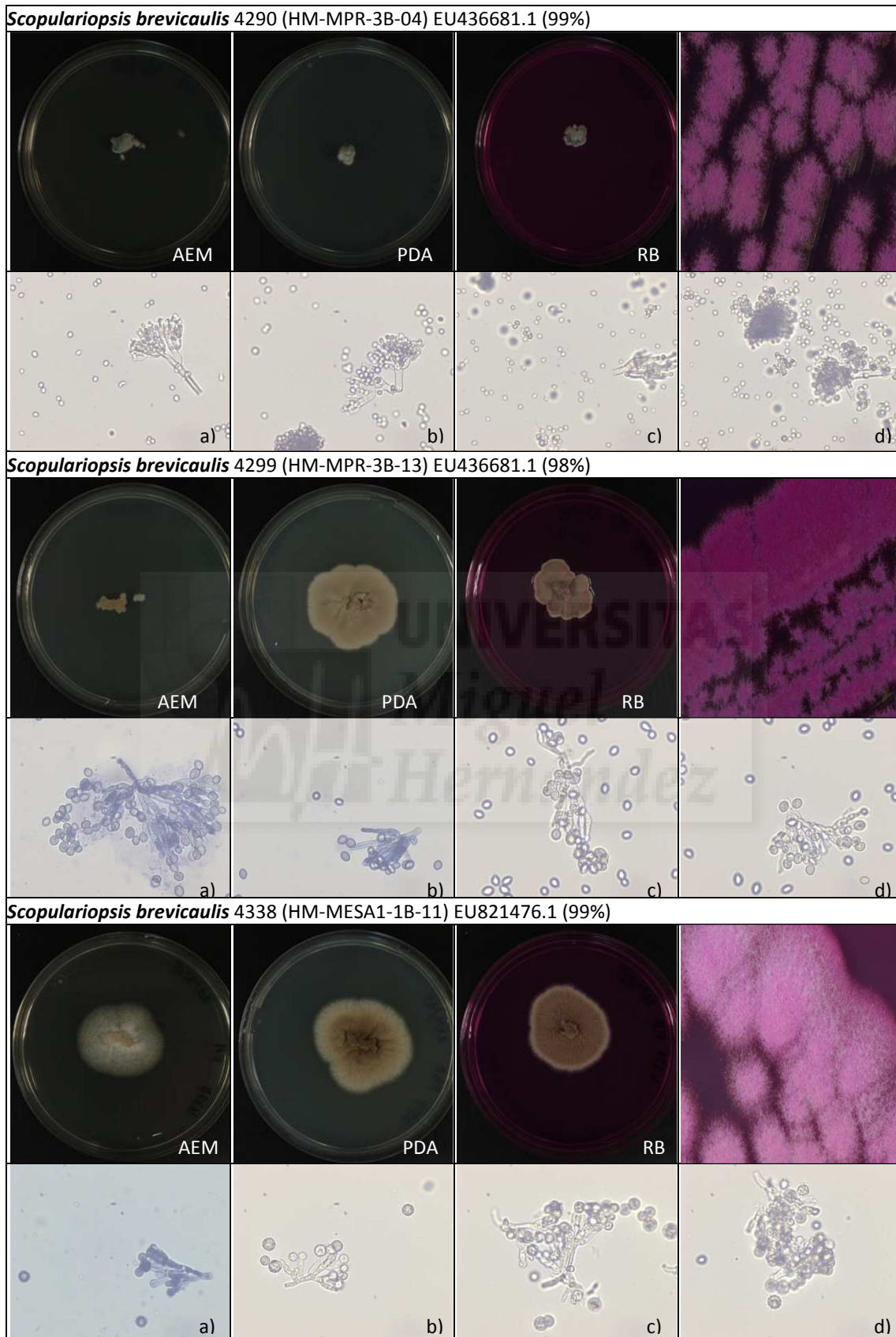


Figura 13q. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Microascales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

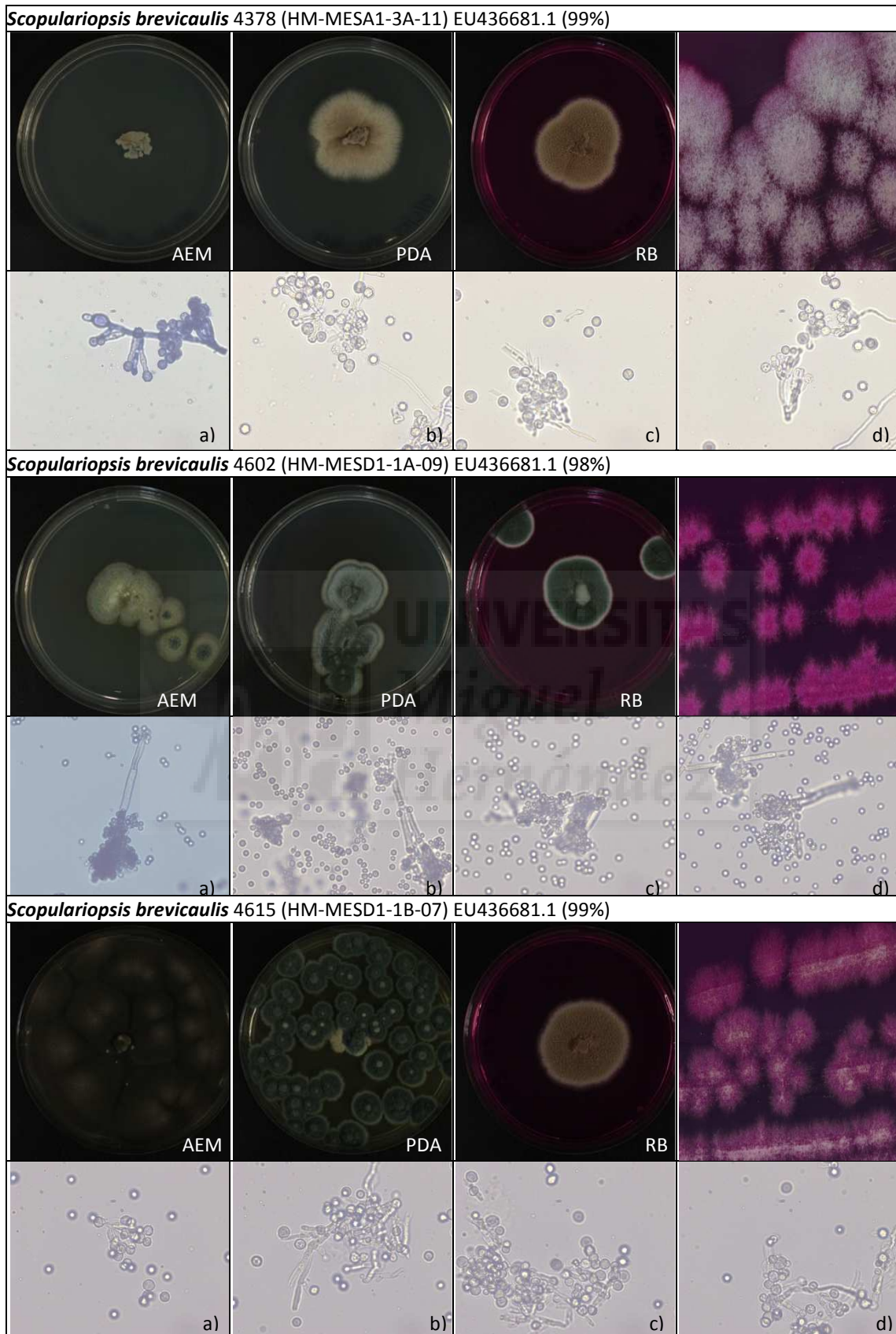


Figura 13r. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Microascales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

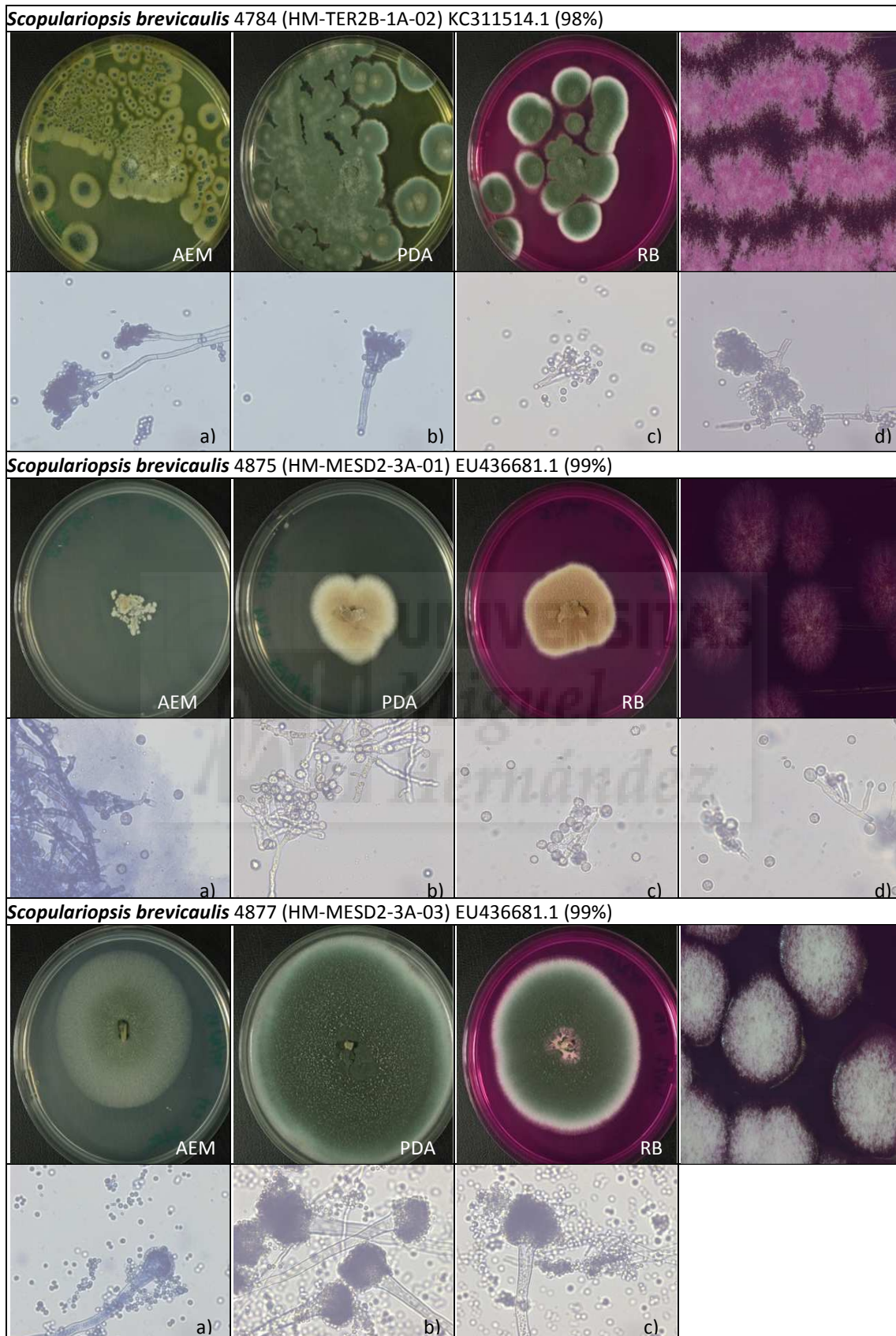


Figura 13s. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Microascales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

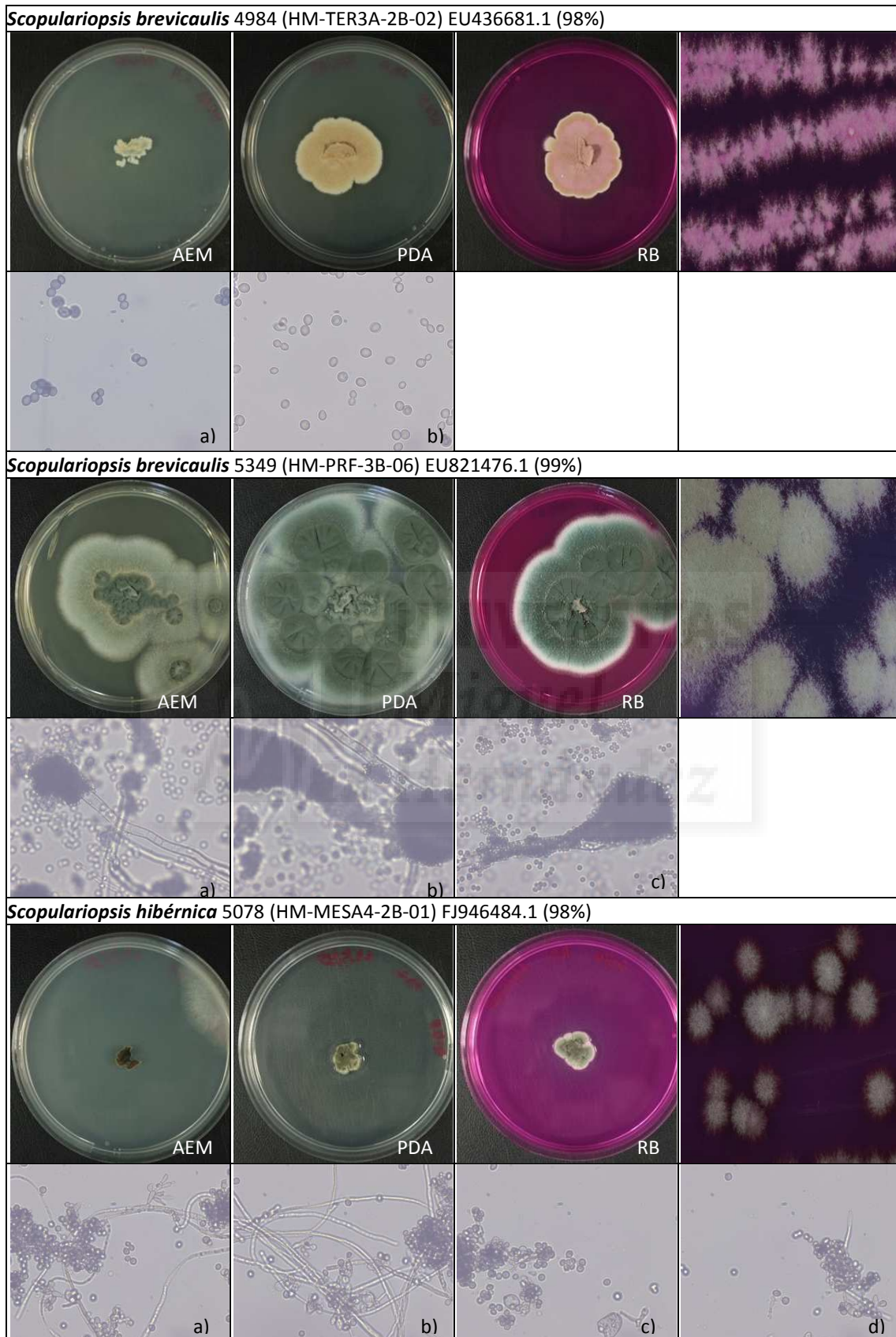


Figura 13t. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Microascales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

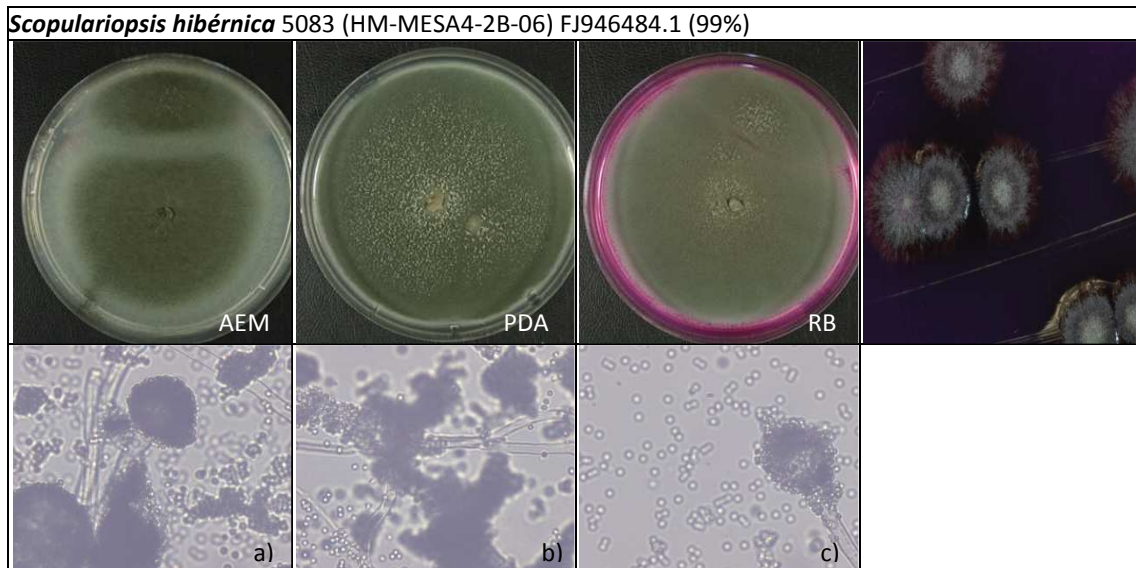


Figura 13u. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Microascales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior)

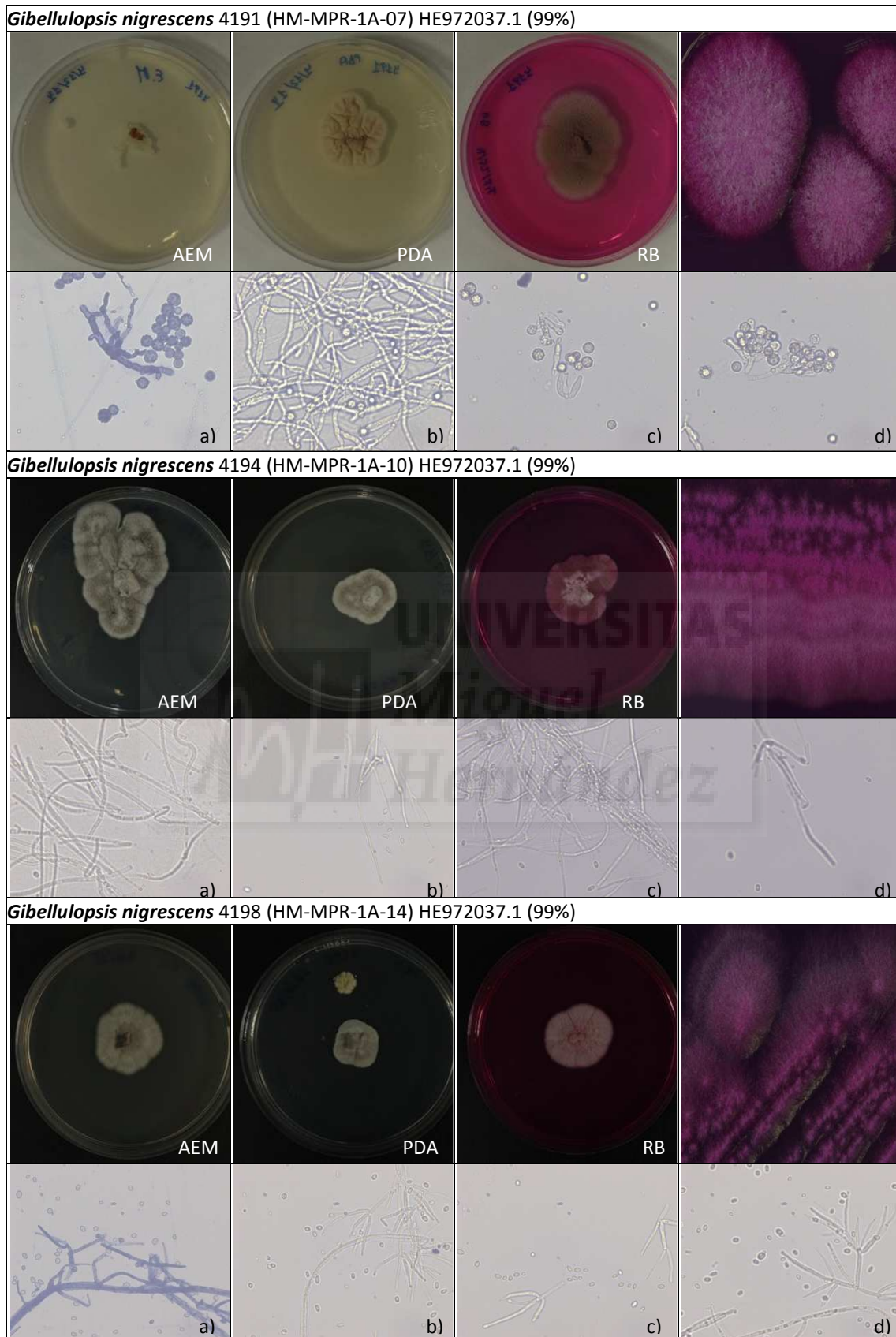


Figura 13v. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

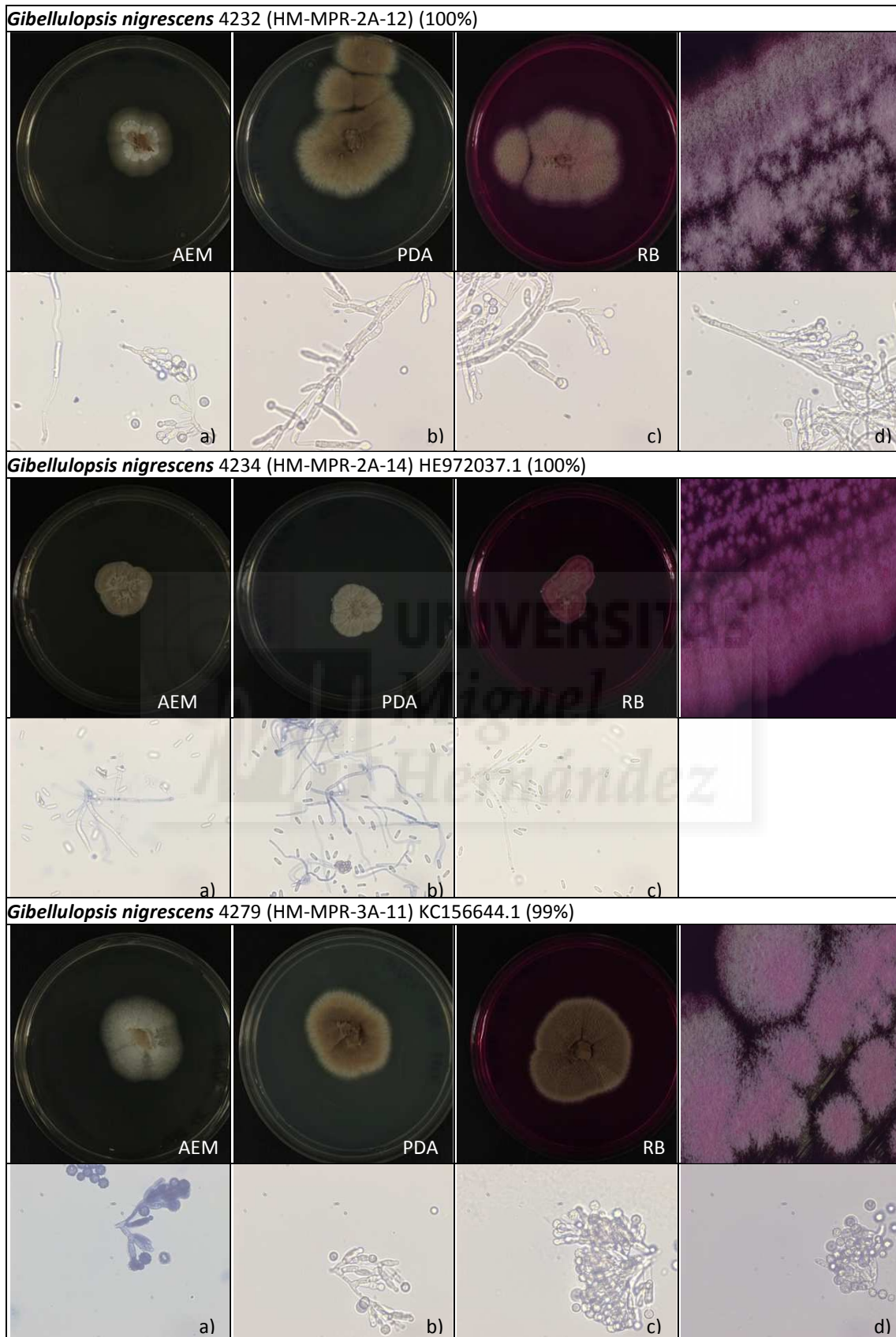


Figura 13w. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior)

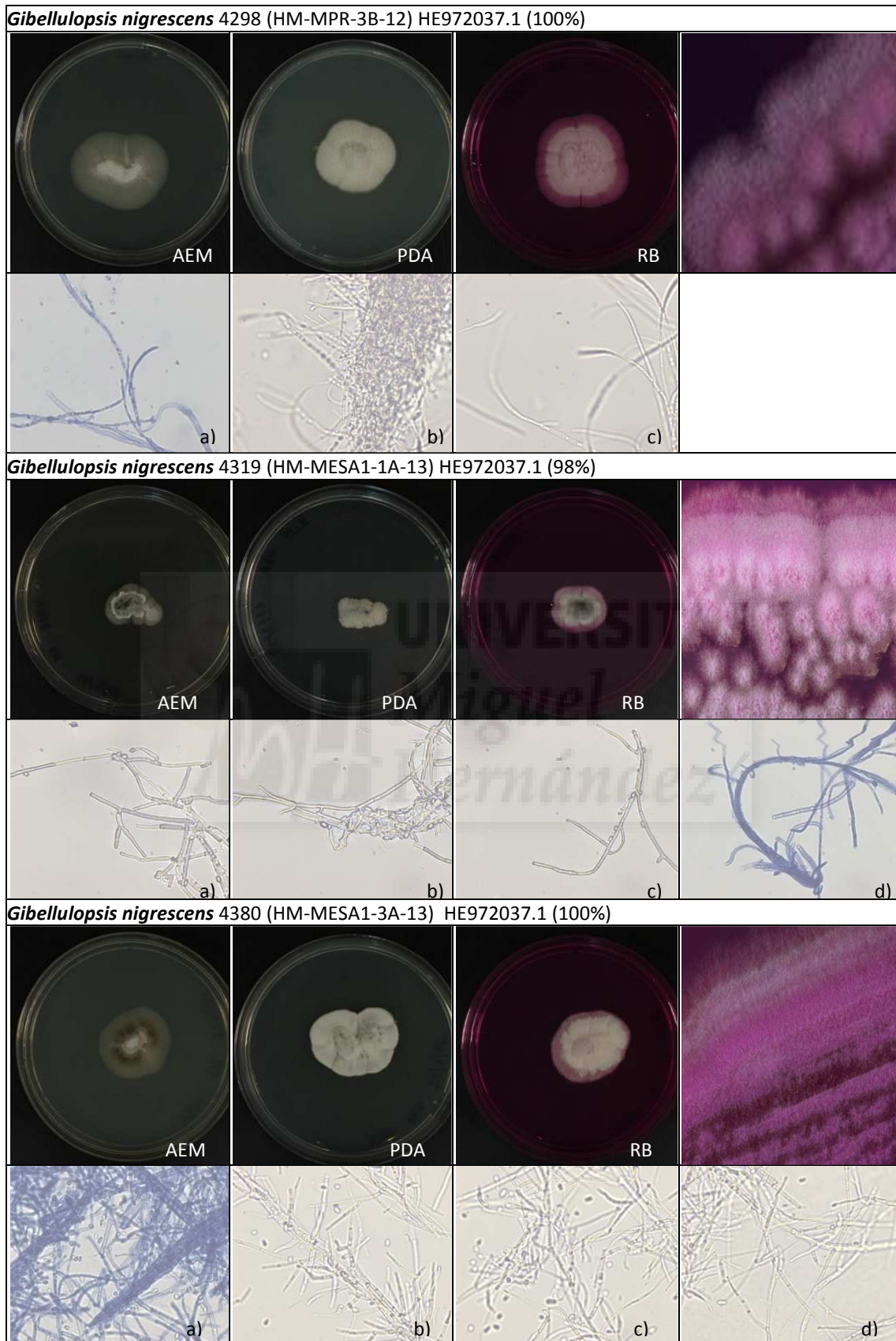


Figura 13x. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

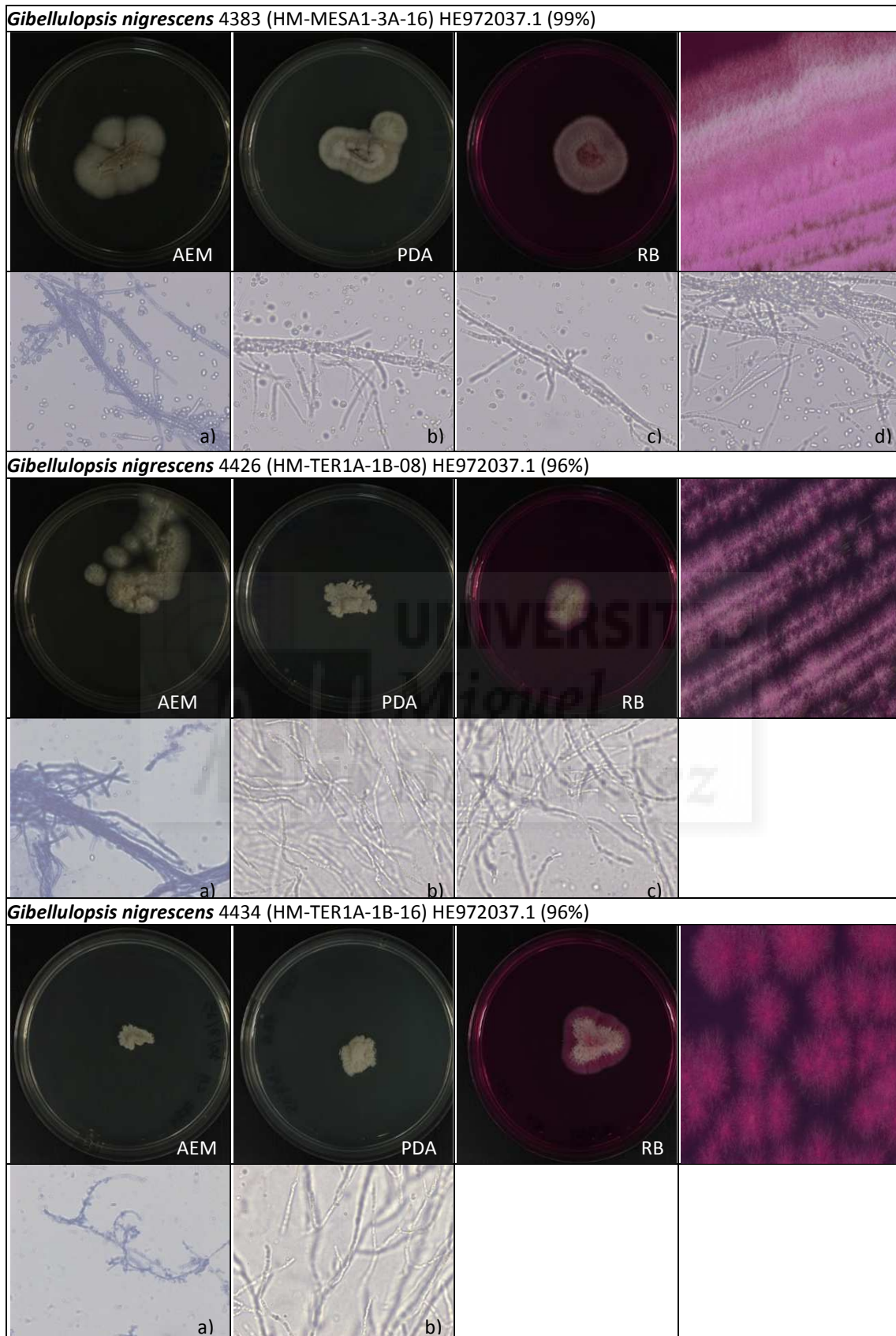


Figura 13y. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

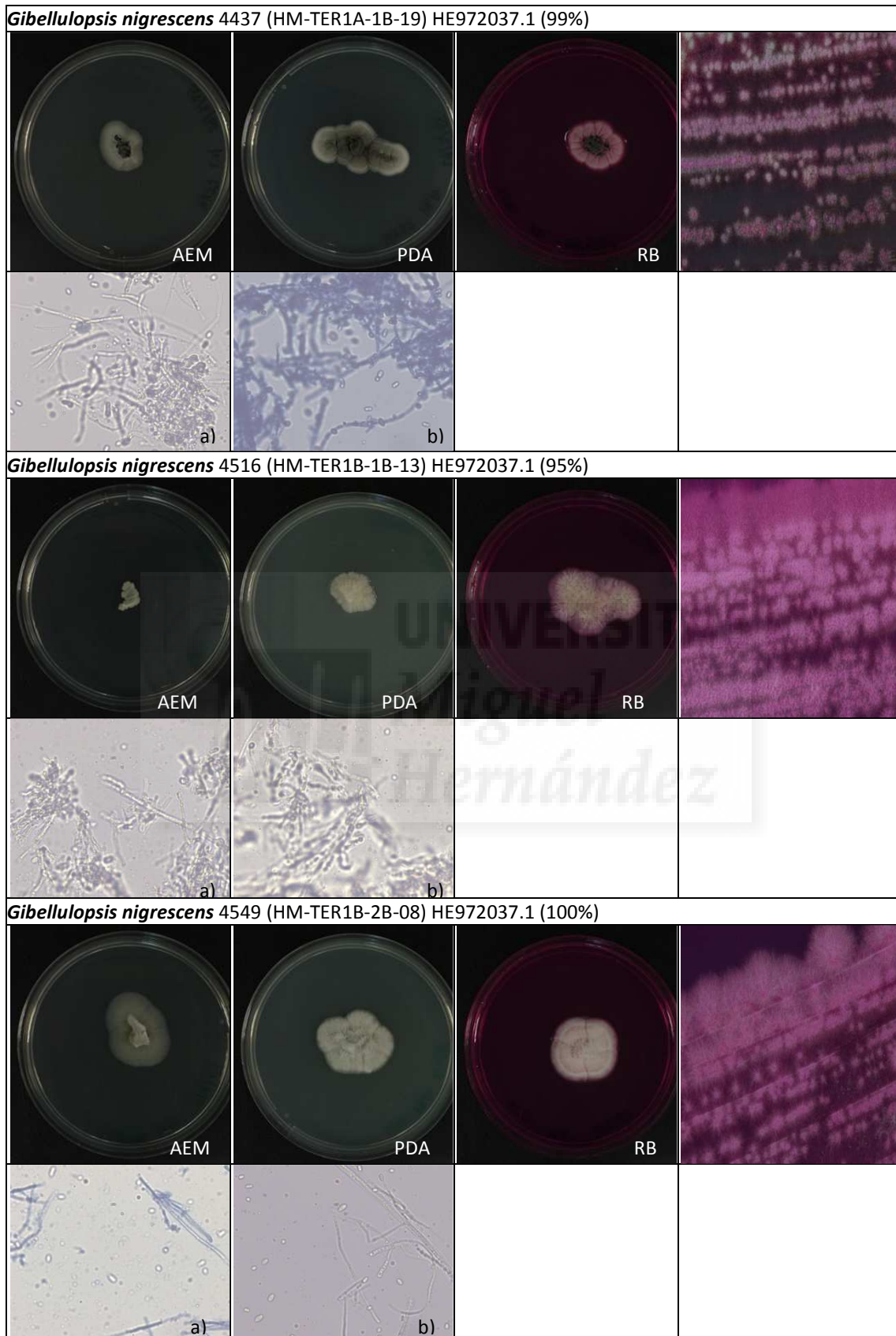


Figura 13z. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

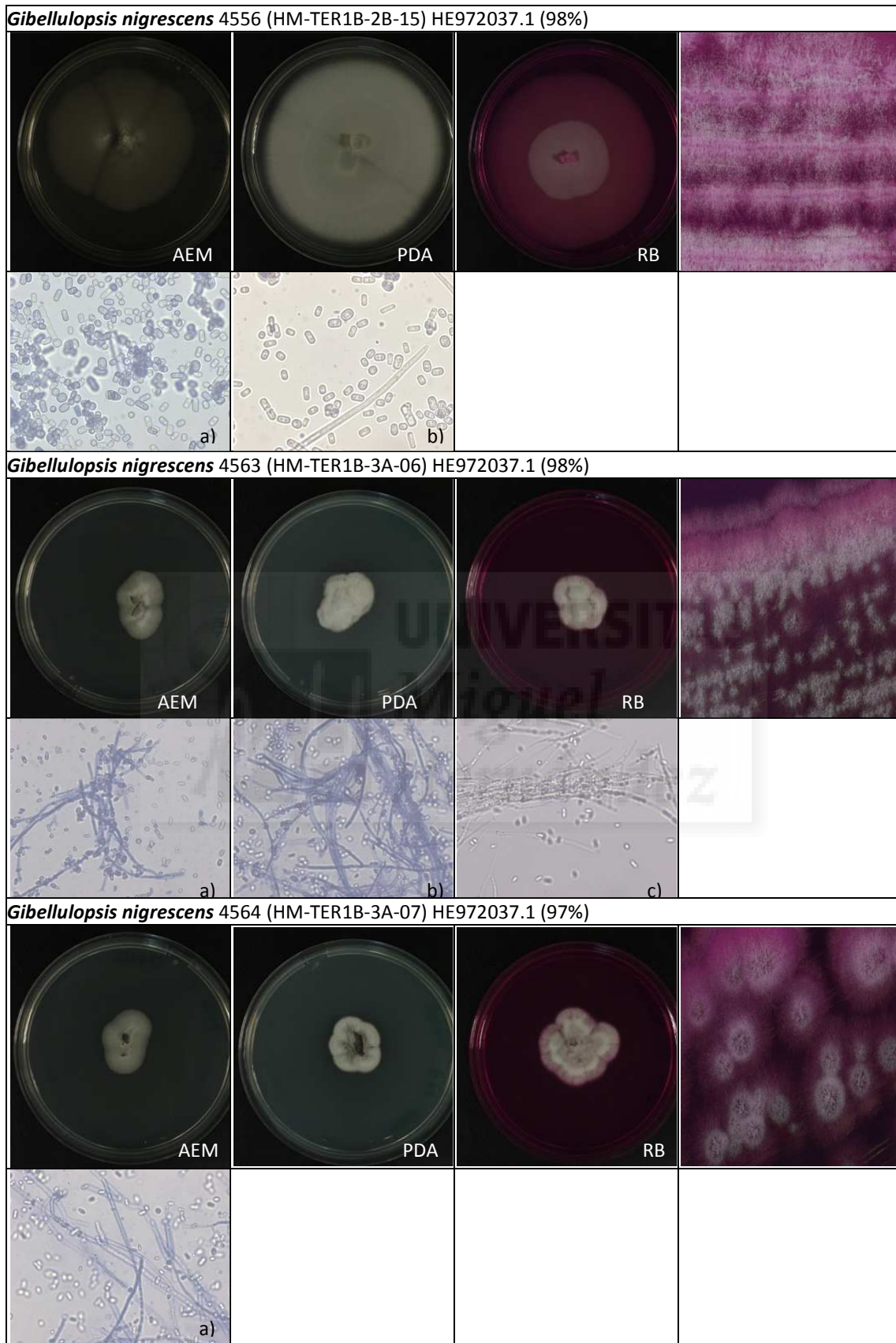


Figura 13aa. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

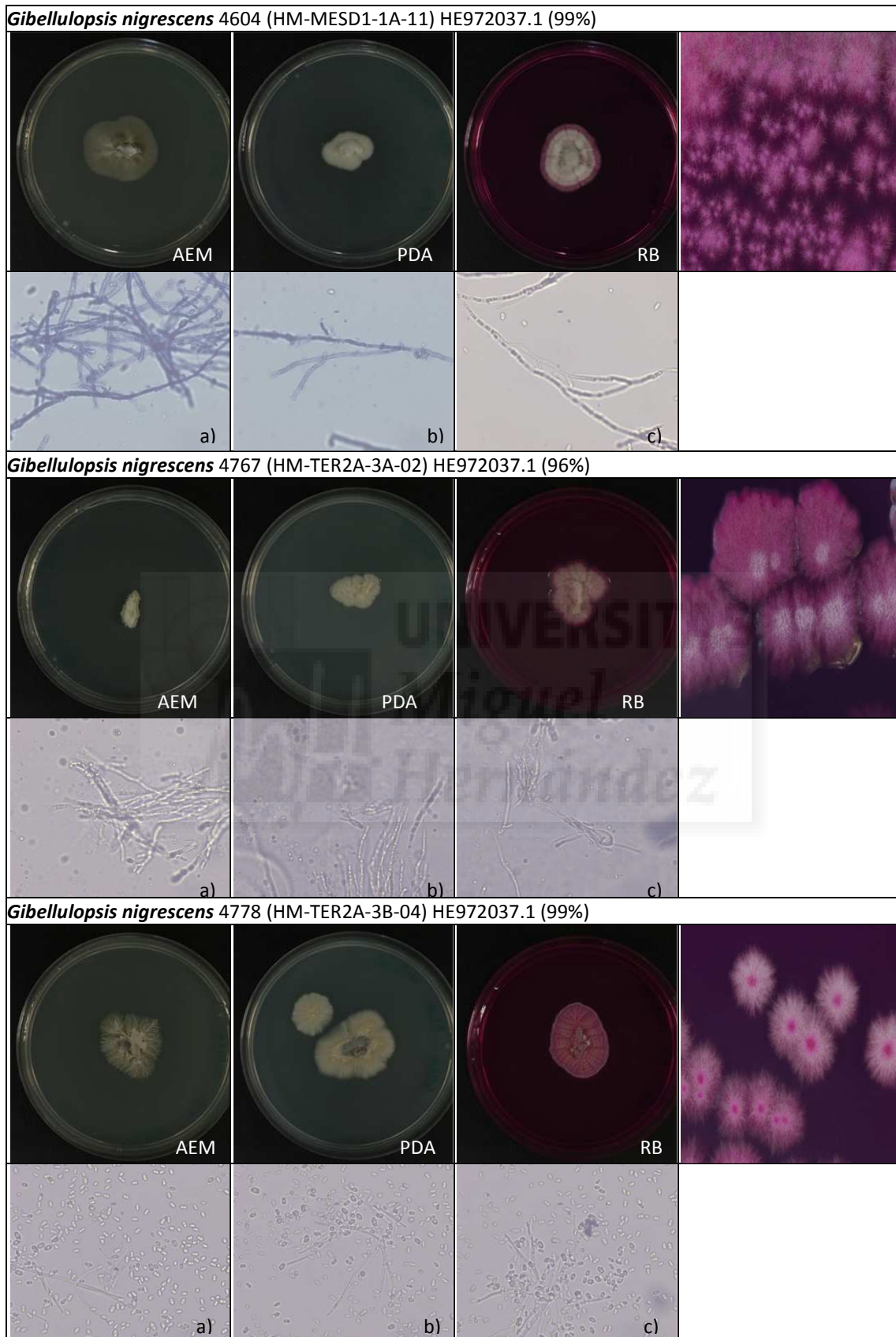


Figura 13ab. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

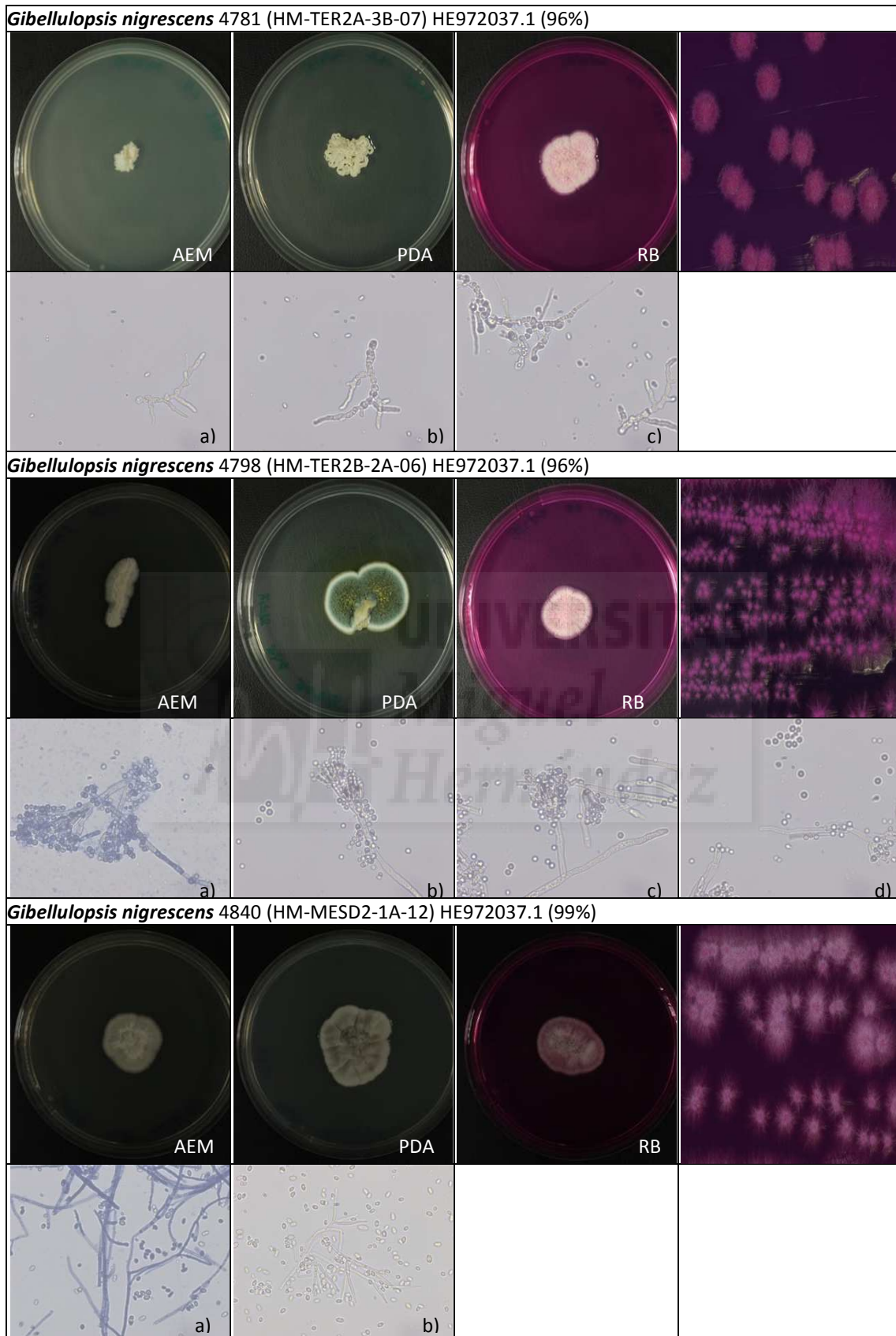


Figura 13ac. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

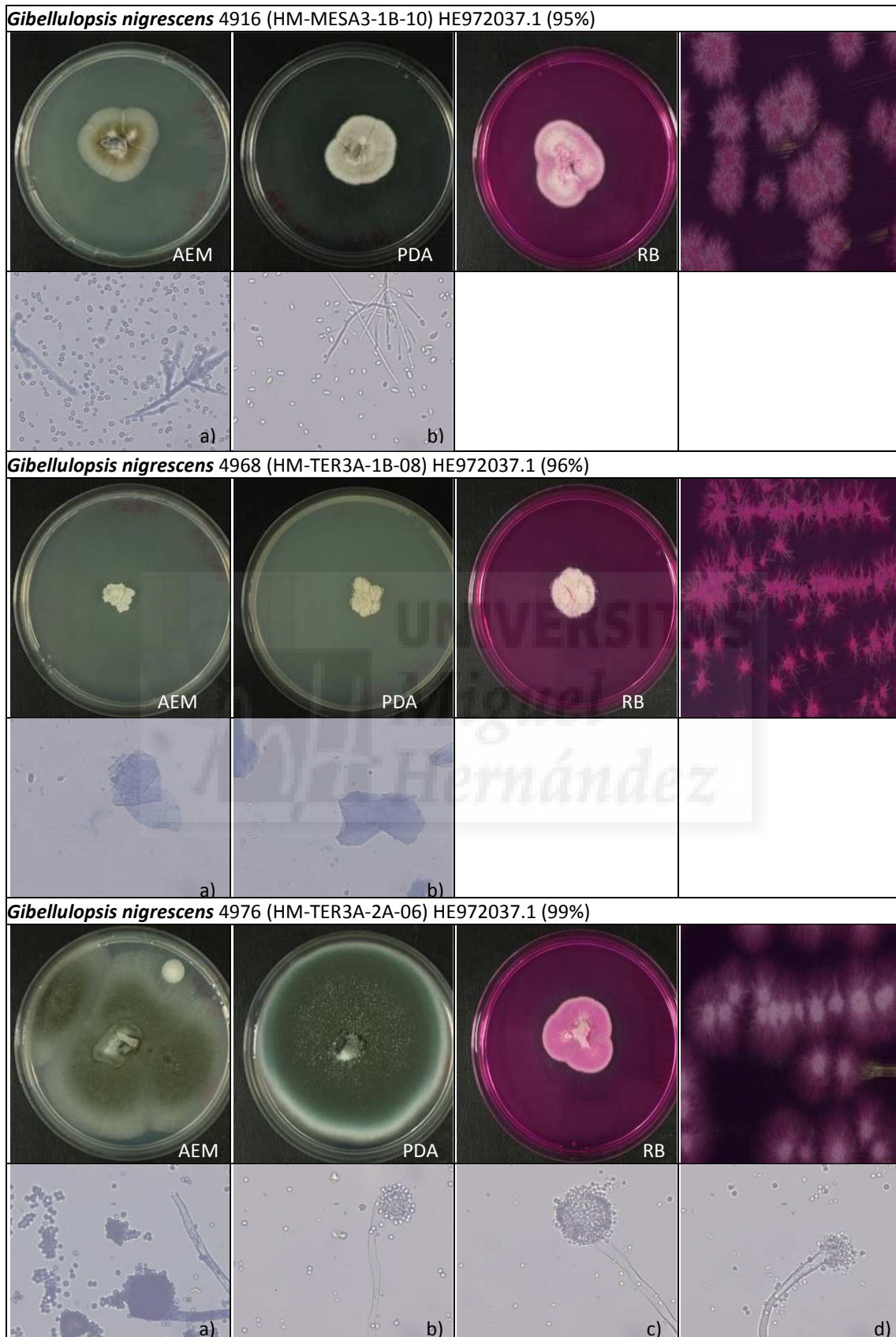


Figura 13ad. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

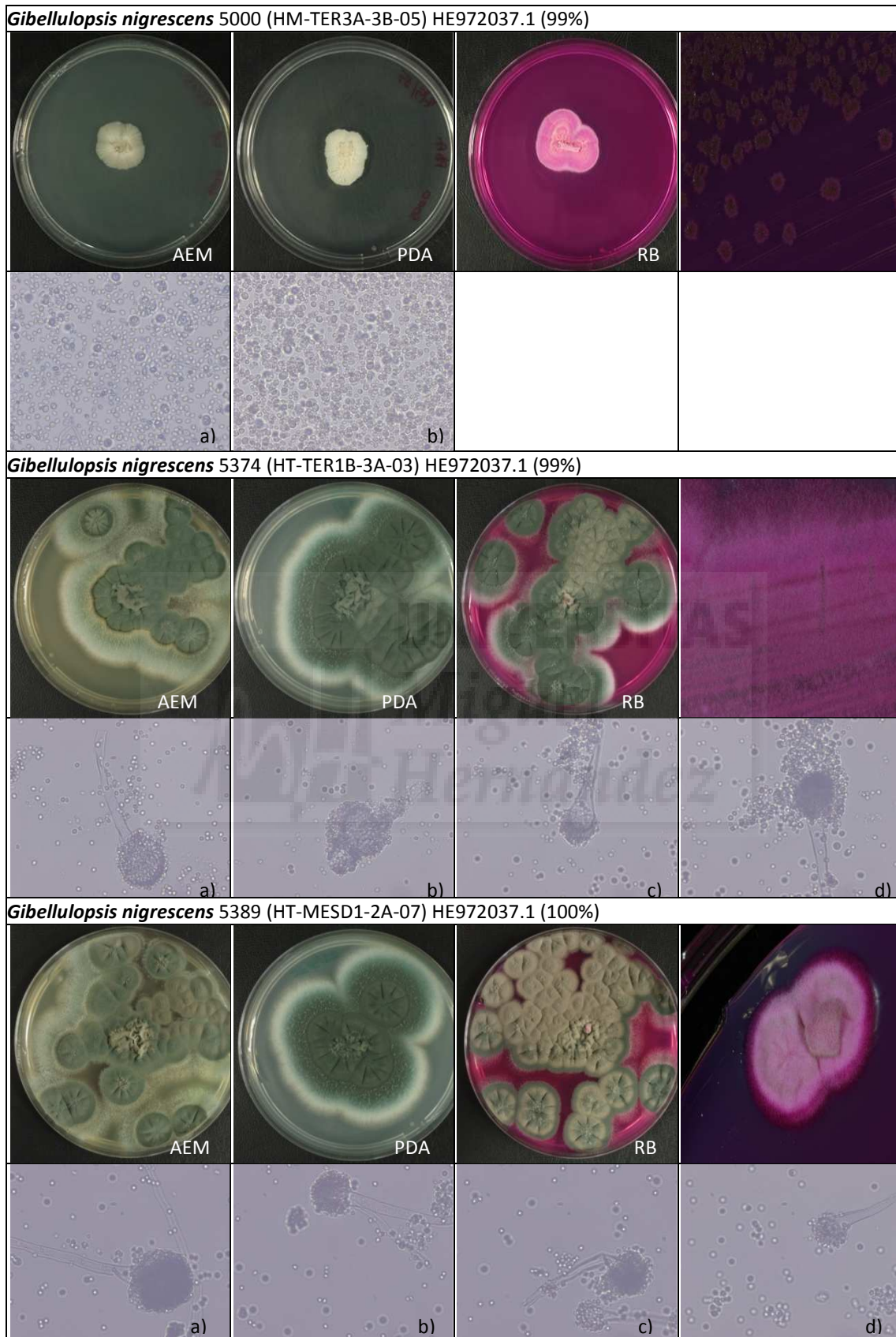


Figura 13ae. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

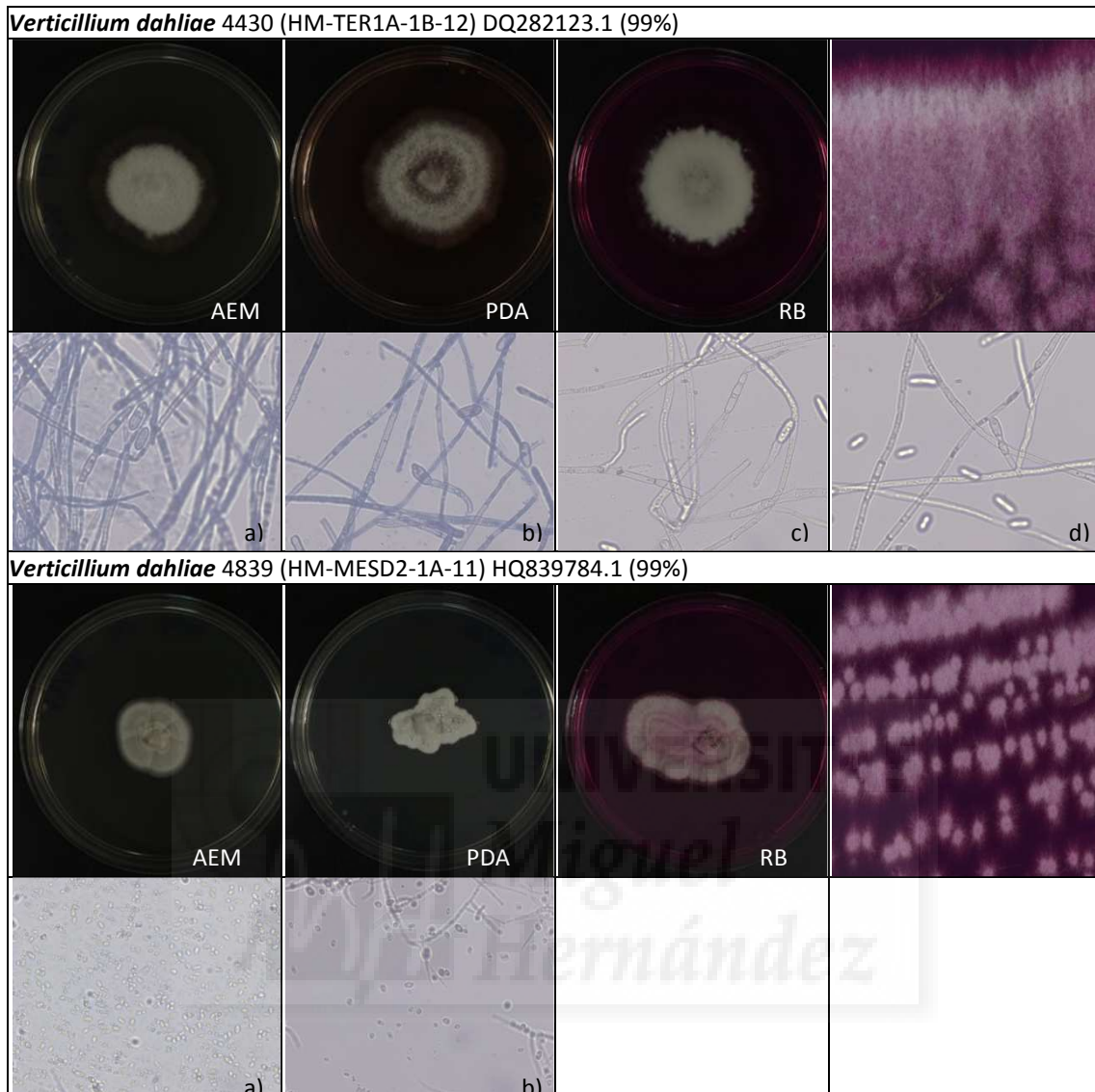


Figura 13af. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes Orden Sin Asignar. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

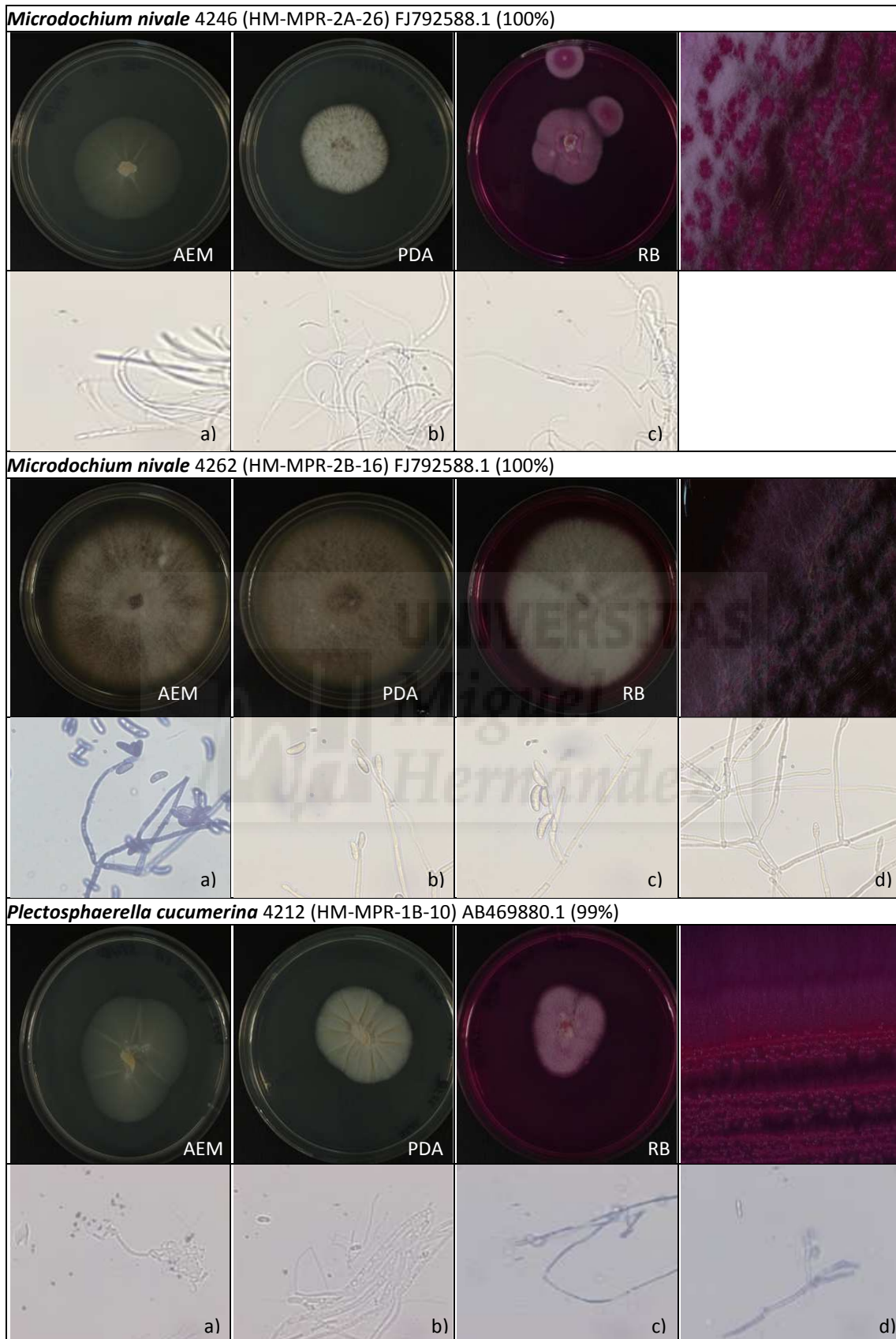


Figura 13ag. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes, Orden Xylariales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

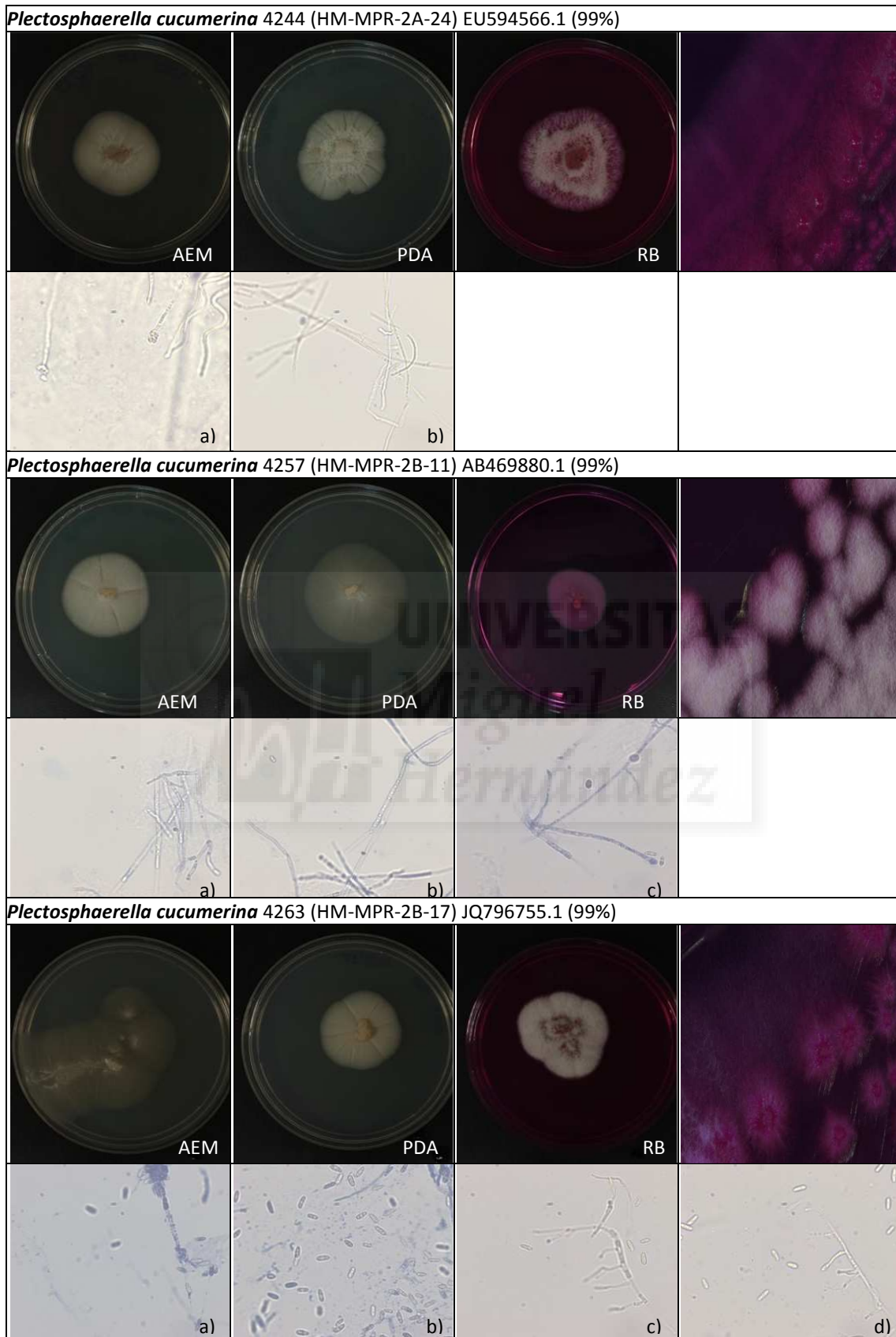


Figura 13ah. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes, Orden Xylariales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior)..

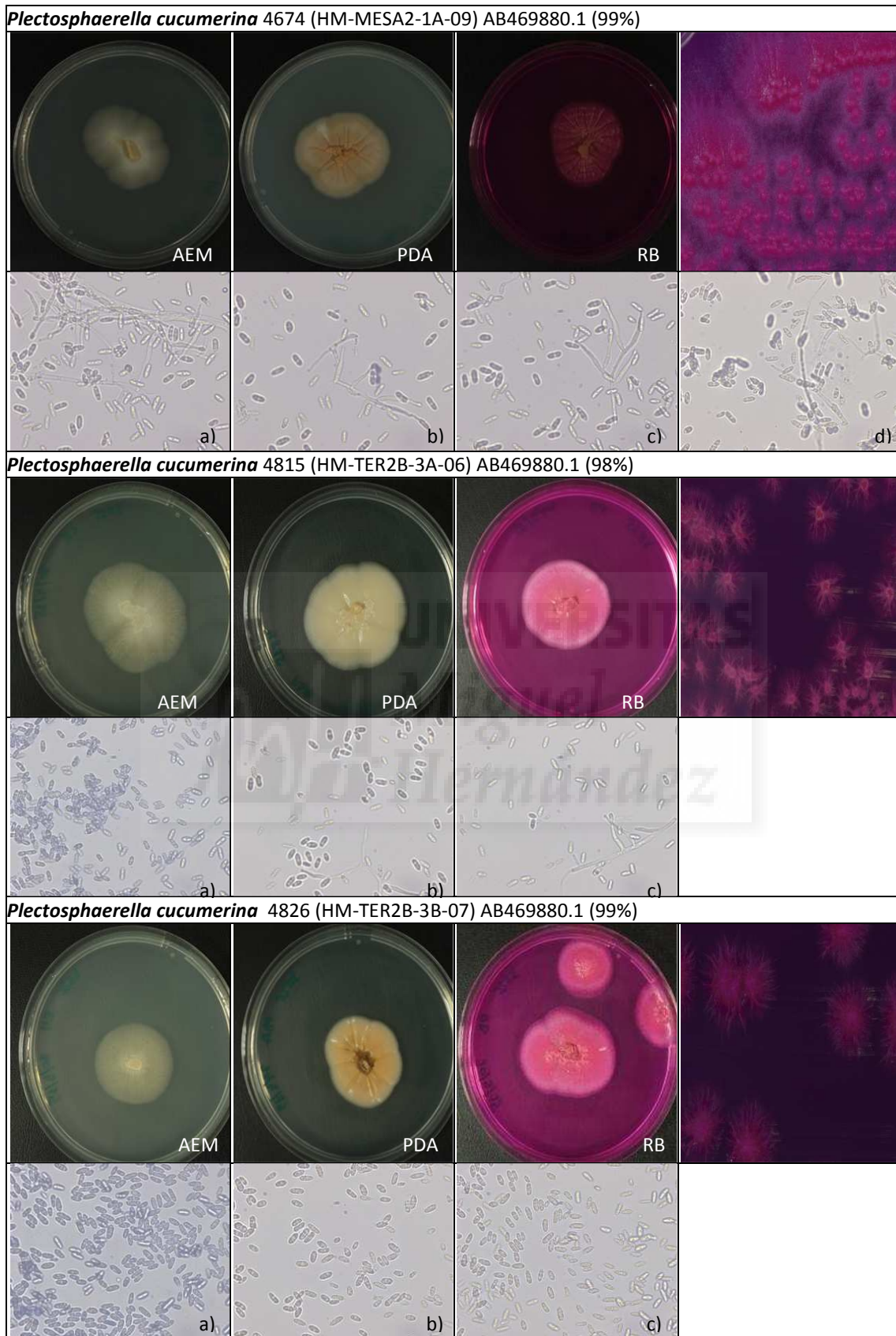


Figura 13ai. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes, Orden Xylariales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

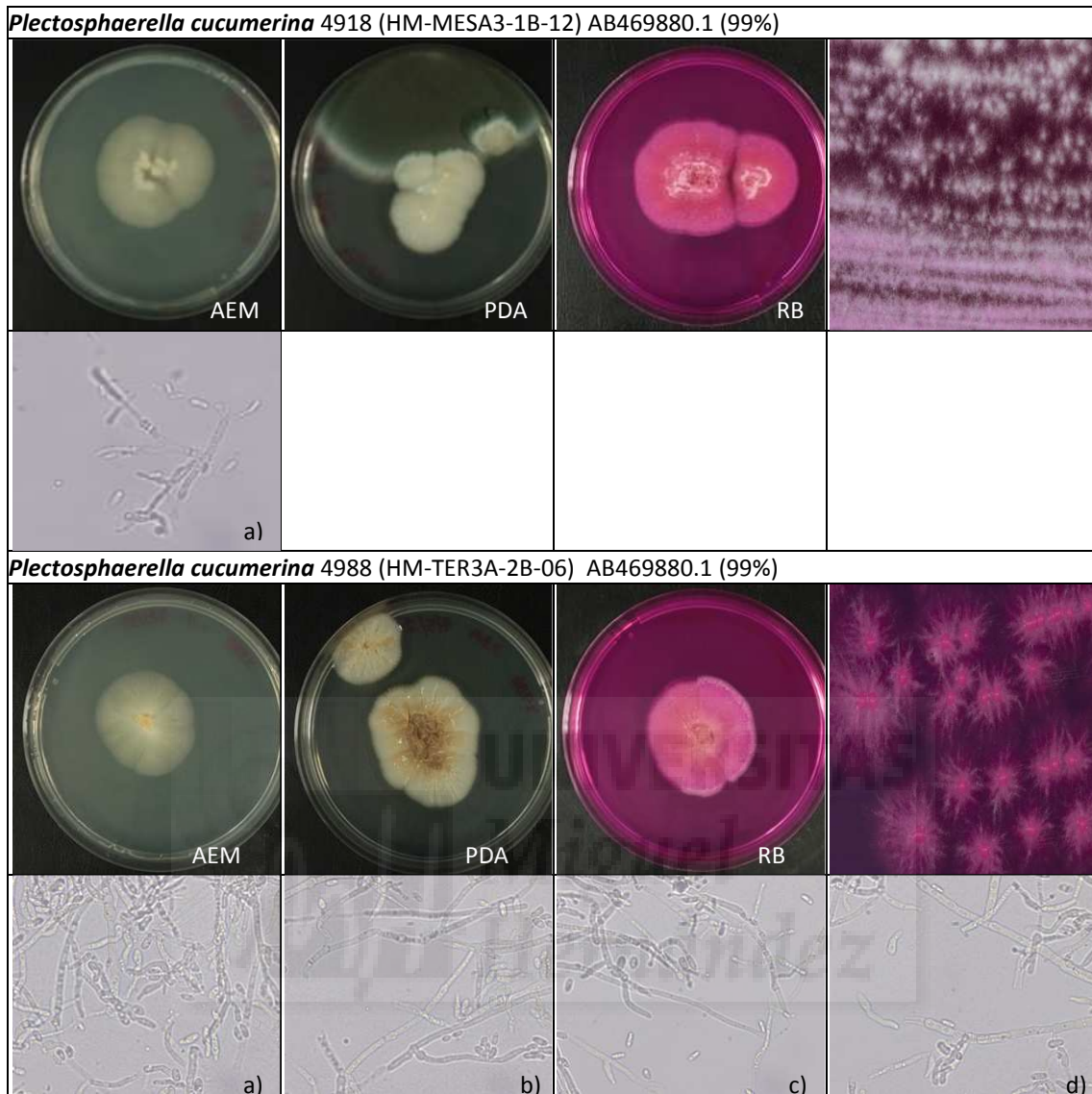


Figura 13aj. Fenotipo de especies de la Clase Sordariomycetes, Orden Xylariales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

4.1.7. Phylum Basidiomycota: Clase Microbotryomycetes

En la clase Microbotryomycetes se identificaron 3 géneros diferentes, *Rhodosporidium*, al que perteneció una cepa, *Rhodotorula*, con cuatro cepas incluidas en dos géneros y *Sporidiobolus* con 1 cepa (Tabla 13a). Todas las cepas pertenecientes a esta clase fueron mesófilas y se detectaron en las primeras fases del proceso de compostaje, estando ausentes en la fase de enfriamiento y maduración (Tabla 3b).

Tabla 13a. Hongos de la clase Microbotryomycetes-Orden Sporidiobolales identificados*.

Id General	Termofilia	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
4346	0	HM	HM-MESA1-2A-01	<i>Rhodosporidium diobovatum</i>	99	HQ670682.1
4186	0	HM	HM-MPR-1A-02	<i>Rhodotorula glutinis</i>	99	AB025993.1
4305	0	HM	HM-MPR-3B-20	<i>Rhodotorula glutinis</i>	99	FJ345357.1
4312	0	HM	HM-MESA1-1A-06	<i>Rhodotorula glutinis</i>	99	FJ345357.1
4523	1	HM	HM-TER1B-2A-02	<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>	100	DQ386306.1
4443	1	HM	HM-TER1A-2A-03	<i>Sporidiobolus ruineniae</i>	96	EU547494.2

*Notas: Id General, número de identificación de la cepa; Termofilia: 0 mesófilo, 1 termotolerante mesófilo, 2 termotolerante termófilo, 3 termófilo; Programa, programa de aislamiento, HM-hongos mesófilos, HT-hongos termófilos; Cepa tipo, nomenclatura de la primera cepa aislada en el proceso (ver Material y Métodos, apartado 3.1); Identidad, especie o género con el que la secuencia de la cepa es más similar; % Identidad, las cepas cuya secuencia tiene una homología (% Identidad) con la depositada en el Genbank NCBI inferior al 95% pueden ser catalogadas sólo a nivel de género; No. Acceso, número de acceso en el GenBank NCBI de la secuencia con la que se obtuvo la homología de cada cepa.

Tabla 13b. Abundancia de las especies de la clase Microbotryomycetes-Orden Sporidiobolales durante el compostaje*

Identidad	MUESTREO																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Rhodosporidium diobovatum</i>		1,0	3,8	2,5	1,4	1,0													
<i>Rhodotorula glutinis</i>	2,8	0,5	2,1	5,7															
<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>				0,2															
<i>Sporidiobolus ruineniae</i>			0,3		1,0														

*Notas: Se indica la abundancia como el porcentaje respecto al recuento total de hongos. Muestreos realizados durante el proceso de compostaje (ver Material y Métodos, Tabla 5).

En las Figuras 14a y b se muestran los fenotipos macro y microscópicos de las cepas pertenecientes a esta clase. Todas las cepas, excepto *Rhodotorula glutinis* 4305 (Figura 14a), tuvieron crecimiento levaduriforme tras 7 días de cultivo en los tres medios ensayados. En todos los casos produjeron colonias mas o menos mucosas de color naranja, debido a un pigmento que estos microorganismos producen para protegerse de las radiaciones ultravioleta. La observación microscópica confirmó, en estos casos, la ausencia de hifas típica de levaduras. Cabe mencionar que cuando se prolongó el tiempo de incubación de estos microorganismos desarrollaron micelio similar al detectado en *R. glutinis* 4305.

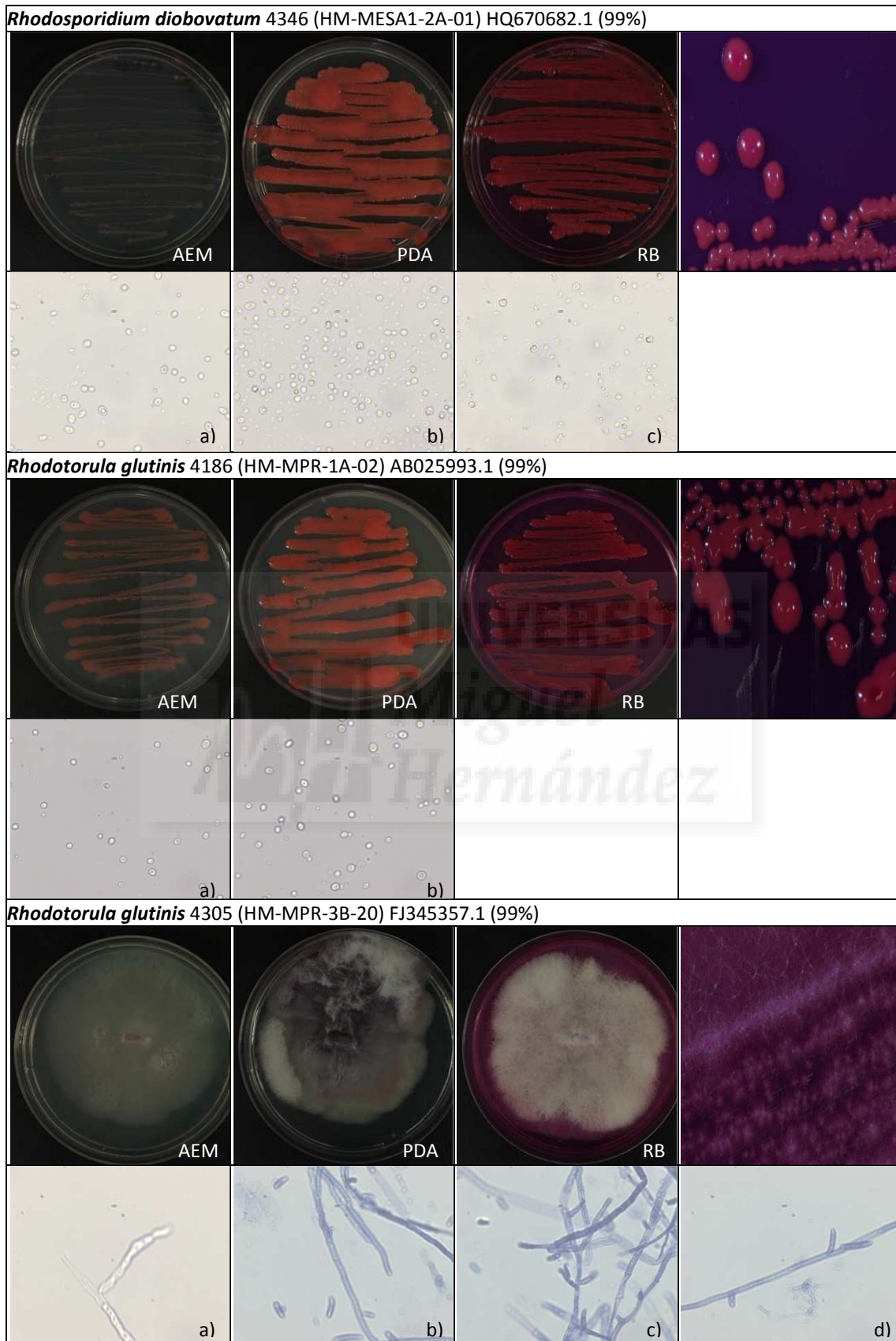


Figura 14a. Fenotipo de especies de la Clase Microbotryomycetes Orden Sporidiobolales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

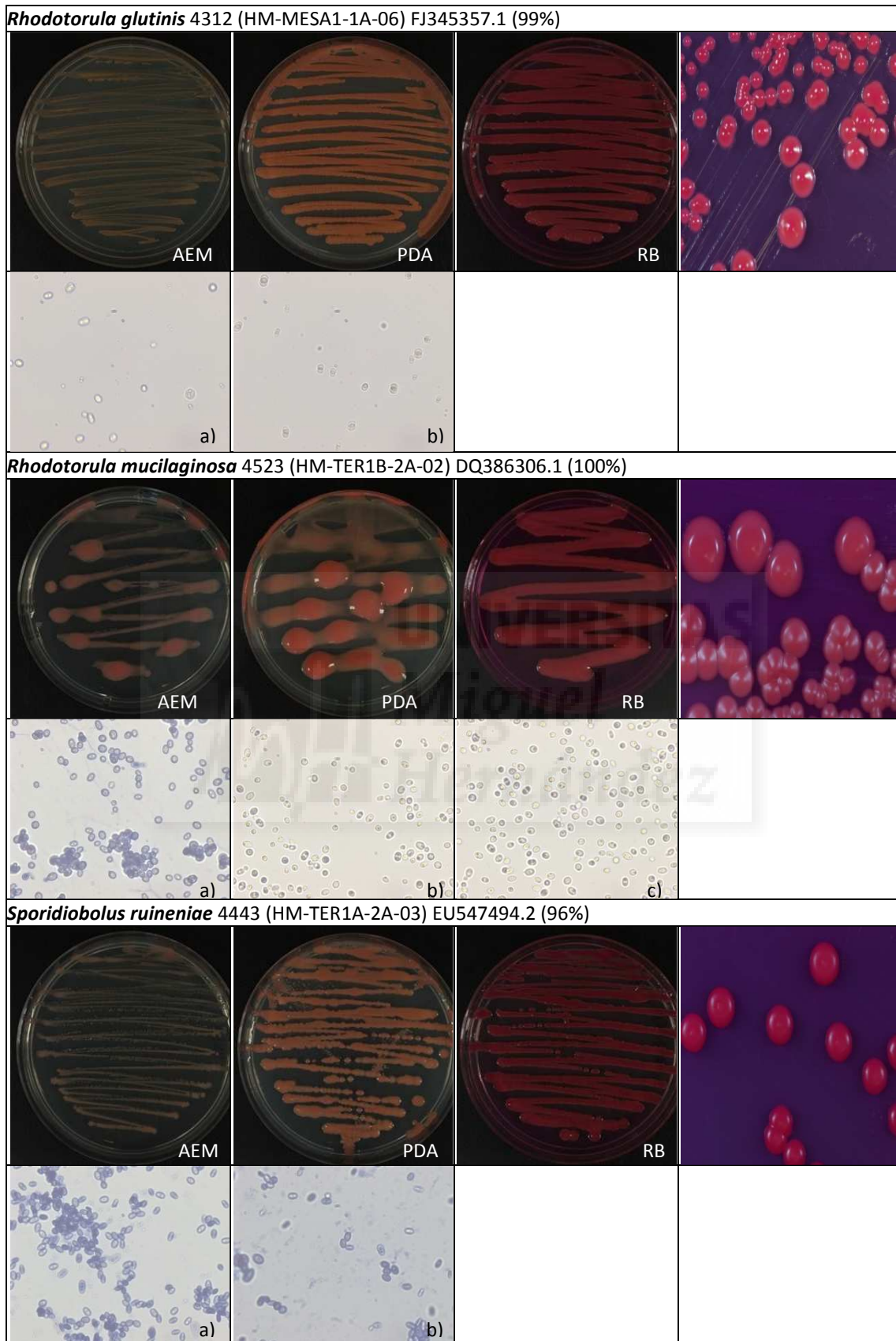


Figura 14b. Fenotipo de especies de la Clase Microbotryomycetes Orden Sporidiobolales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

4.1.8. Phylum Basidiomycota: Clase Tremellomycetes

Cinco cepas pertenecieron a tres géneros incluidos en la clase Tremellomycetes, *Cryptococcus* (3 cepas de tres especies diferentes *C. albidus*, *C. flavescens* y *C. magnus*), *Kwoniella* (1 cepa) y *Trichosporon* (1 cepa) (Tabla 14a). Todas las cepas fueron mesófilas y, al igual que las cepas pertenecientes a la otra clase del phylum Basidiomycota, sólo aparecieron en las primeras fases del proceso de compostaje (Tabla 14b).

Tabla 14a. Hongos de la clase Tremellomycetes-orden Tremellales identificados*.

Id General	Ter	Programa	CepaTipo	Identidad	% Identidad	Accession No.
4356	0	HM	HM-MESA1-2B-03	<i>Cryptococcus albidus</i>	99	KC295595.1
4371	0	HM	HM-MESA1-3A-04	<i>Cryptococcus flavescens</i>	100	FN428902.1
4189	0	HM	HM-MPR-1A-05	<i>Cryptococcus magnus</i>	99	JQ425371.1
4370	0	HM	HM-MESA1-3A-03	<i>Kwoniella mangroviensis</i>	99	EF174042.1
4387	0	HM	HM-MESA1-3B-04	<i>Trichosporon dermatis</i>	99	KC254108.1

*Notas: Id General, número de identificación de la cepa; Termofilia: 0 mesófilo, 1 termotolerante mesófilo, 2 termotolerante termófilo, 3 termófilo; Programa, programa de aislamiento, HM-hongos mesófilos, HT-hongos termófilos; Cepa tipo, nomenclatura de la primera cepa aislada en el proceso (ver Material y Métodos, apartado 3.1); Identidad, especie o género con el que la secuencia de la cepa es más similar; % Identidad, las cepas cuya secuencia tiene una homología (% Identidad) con la depositada en el Genbank NCBI inferior al 95% pueden ser catalogadas sólo a nivel de género; No. Acceso, número de acceso en el GenBank NCBI de la secuencia con la que se obtuvo la homología de cada cepa.

Tabla 14b. Abundancia de las especies de la clase Tremellomycetes-orden Tremellales durante el compostaje*

Identidad	MUESTREO																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Cryptococcus albidus</i>		1,5		0,5		1,0													
<i>Cryptococcus laurentii</i>		0,5	1,4		0,2														
<i>Cryptococcus magnus</i>	1,7			2,0															
<i>Kwoniella mangroviensis</i>		1,0																	
<i>Trichosporon dermatis</i>		0,5																	

*Notas: Se indica la abundancia como el porcentaje respecto al recuento total de hongos. Muestréos realizados durante el proceso de compostaje (ver Material y Métodos, Tabla 5).

Estos microorganismos, al igual que los otros representantes del phylum previamente descritos (Figuras 15a y b), presentaron crecimiento de levadura con colonias de color blanquecino en todos los medios, consistencia cremosa y preparaciones al microscopio en las que se observaban las células aisladas. Además, tal y como ocurría en el caso anterior, los cultivos de algunas de estas cepas evolucionaban hacia crecimiento micelial al prolongar la incubación. Las fases iniciales de dicho crecimiento se pueden observar en *Trichosporon dermatis* 4387 (Figura 15b).

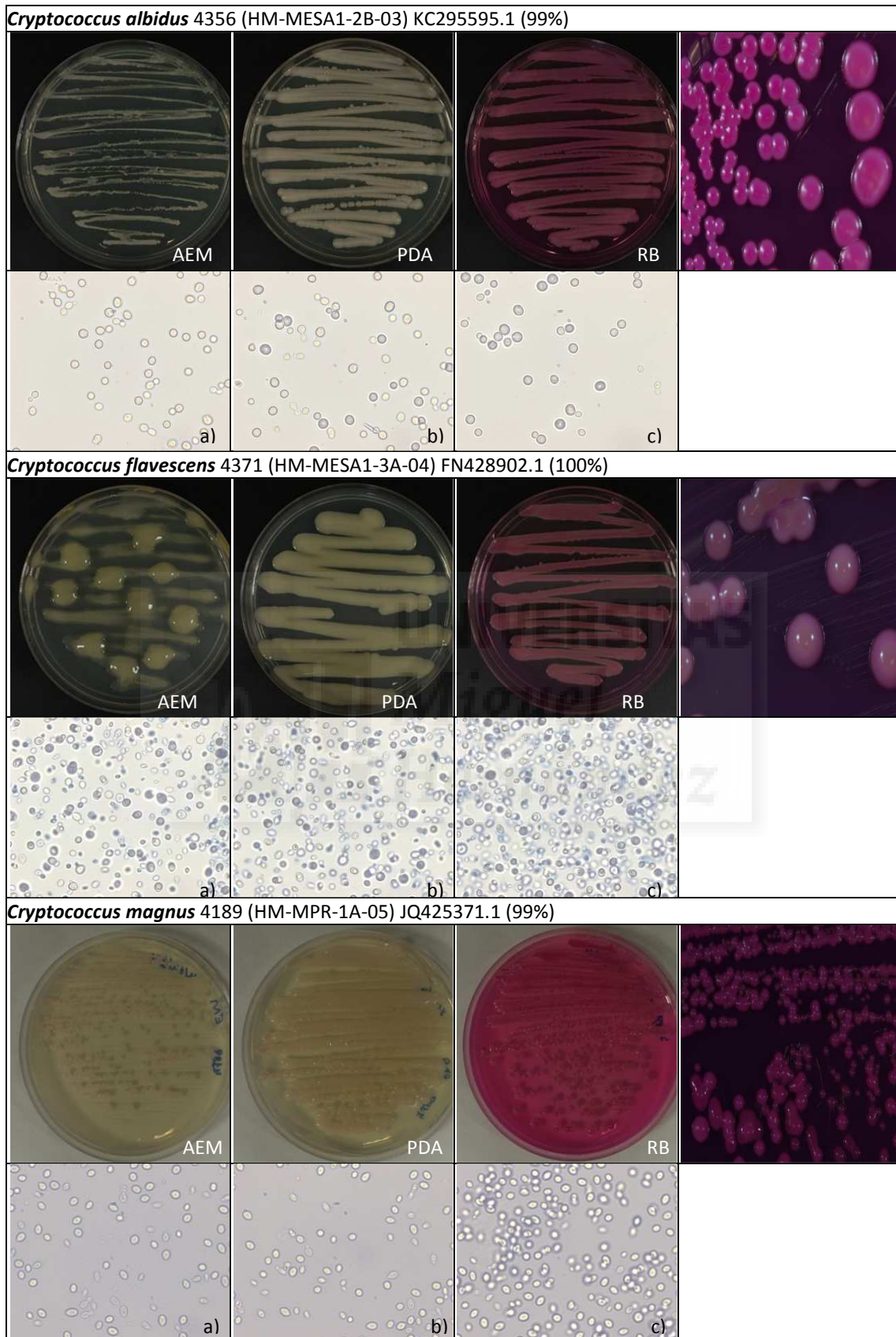


Figura 15a. Fenotipo de especies de la Clase Tremellomycetes, Orden Tremellales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

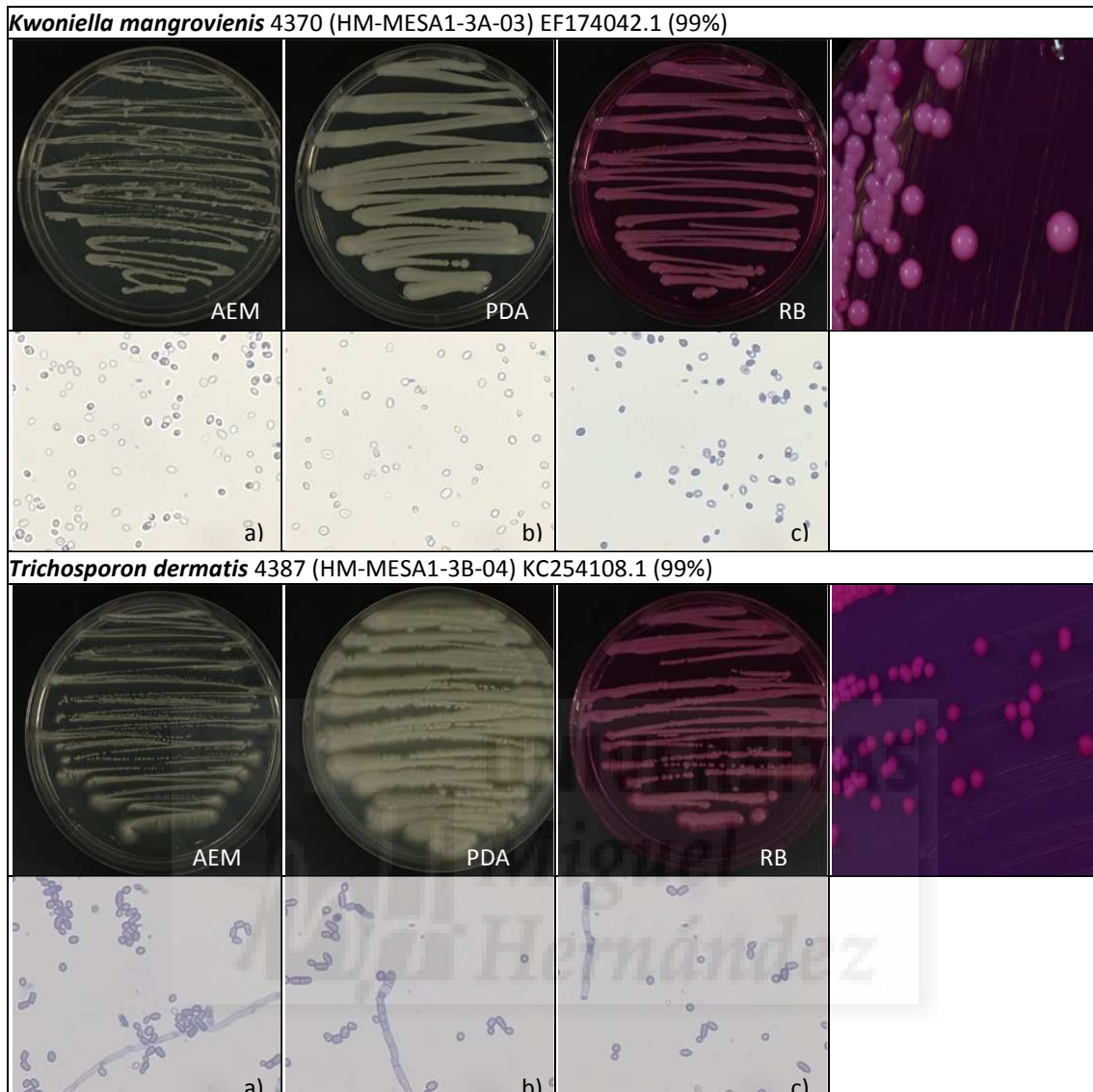


Figura 15b. Fenotipo de especies de la Clase Tremellomycetes, Orden Tremellales. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

4.1.9. Hongos no identificados

Ochos cepas no pudieron ser identificadas debido a que no se logró amplificar o secuenciar la región ITS. Las características de estas cepas y su abundancia durante el compostaje se muestran en las Tablas 15a y b, respectivamente. Todas ellas fueron mesófilas y su presencia durante el compostaje fue variable dependiendo de la cepa. Así, las cepas 7 y 8 sólo se detectaron en un muestreo, mientras que las cepas 2 y 4 se encontraron en cinco muestreos con distinta distribución cada una. La cepa 1 se detectó en dos muestreos y el resto de cepas fueron encontradas en dos muestreos.

Tabla 15a. Hongos no identificados*.

Id General	Ter	Programa	CepaTipo	Identidad
4193	0	HM	HM-MPR-1A-09	NO IDENTIFICADA 1
4199	0	HM	HM-MPR-1A-15	NO IDENTIFICADA 2
4294	1	HM	HM-MPR-3B-08	NO IDENTIFICADA 3
4297	0	HM	HM-MPR-3B-11	NO IDENTIFICADA 4
4303	0	HM	HM-MPR-3B-17	NO IDENTIFICADA 5
4473	0	HM	HM-TER1A-3A-07	NO IDENTIFICADA 6
4482	0	HM	HM-TER1A-3B-08	NO IDENTIFICADA 7
4550	0	HM	HM-TER1B-2B-09	NO IDENTIFICADA 8

*Notas: Id General, número de identificación de la cepa; Termofilia: 0 mesófilo, 1 termotolerante mesófilo, 2 termotolerante termófilo, 3 termófilo; Programa, programa de aislamiento, HM-hongos mesófilos, HT-hongos termófilos; Cepa tipo, nomenclatura de la primera cepa aislada en el proceso (ver Material y Métodos, apartado 3.1).

Tabla 15b. Abundancia de las especies no identificadas durante el compostaje*

Identidad	MUESTREO																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
No identificado 1	0,6	0,5							2,0	0,3									
No identificado 2	0,2	2,6										0,5					0,5		0,8
No identificado 3	0,4		0,3																
No identificado 4	0,4	0,5		0,2			0,7			0,3									
No identificado 5	0,2			1,5															
No identificado 6			0,3						0,5										
No identificado 7			0,3																
No identificado 8				0,5															

*Notas: Se indica la abundancia como el porcentaje respecto al recuento total de hongos. Muestreos realizados durante el proceso de compostaje (ver Material y Métodos, Tabla 5).

Los fenotipos macro y microscópicos de estas cepas no identificadas se muestran en las Figuras 16a-c.

Las cepas 1 y 2 parecen compartir fenotipo, ambas tienen micelio blanco en los tres medios y similar aspecto de hifas. La identificación molecular de estos aislados probablemente revelará que pertenecen a la misma especie. De igual forma, la cepa 3, 5, 6 y 7 también comparten características morfológicas.

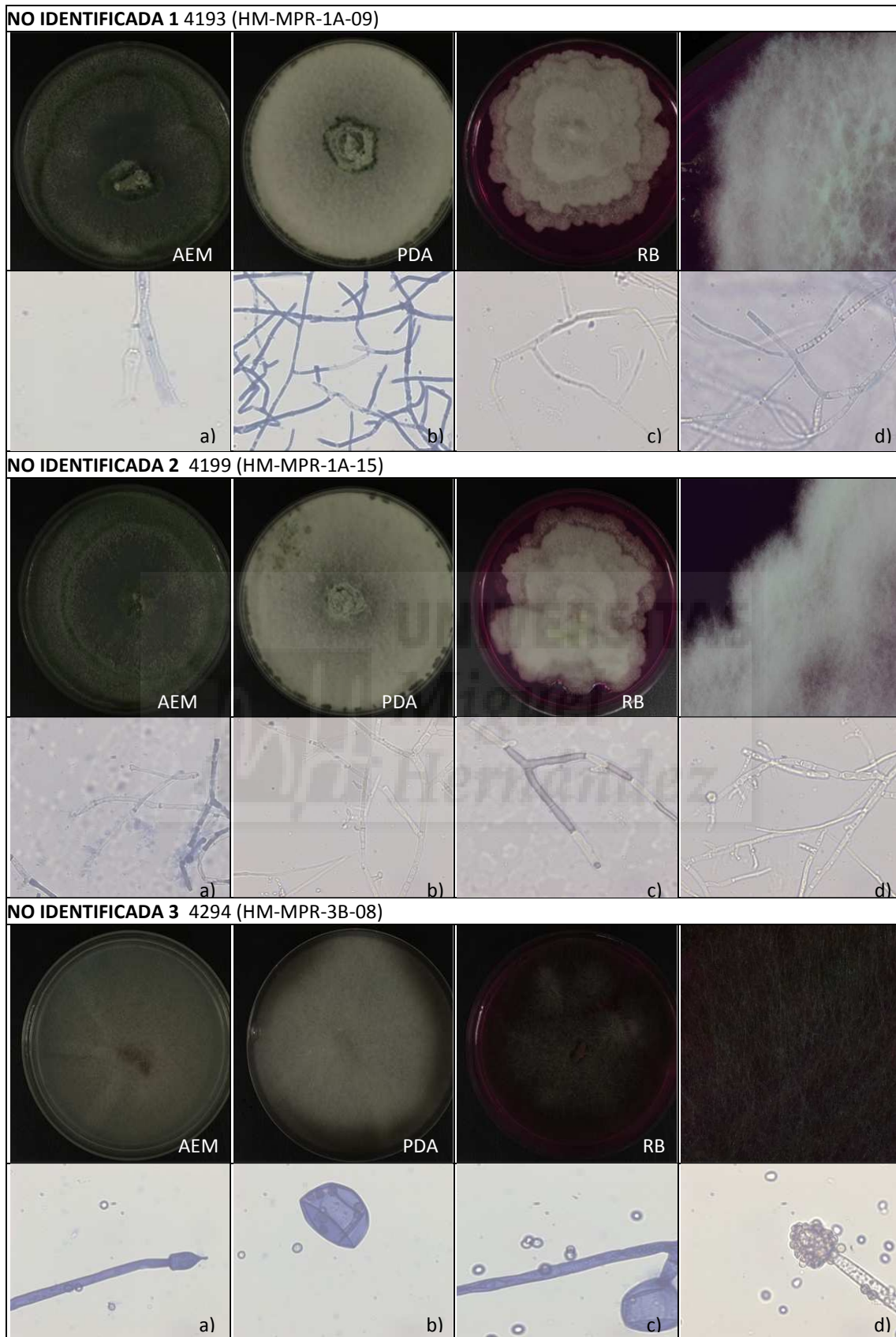


Figura 16a. Fenotipo de especies no identificadas. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

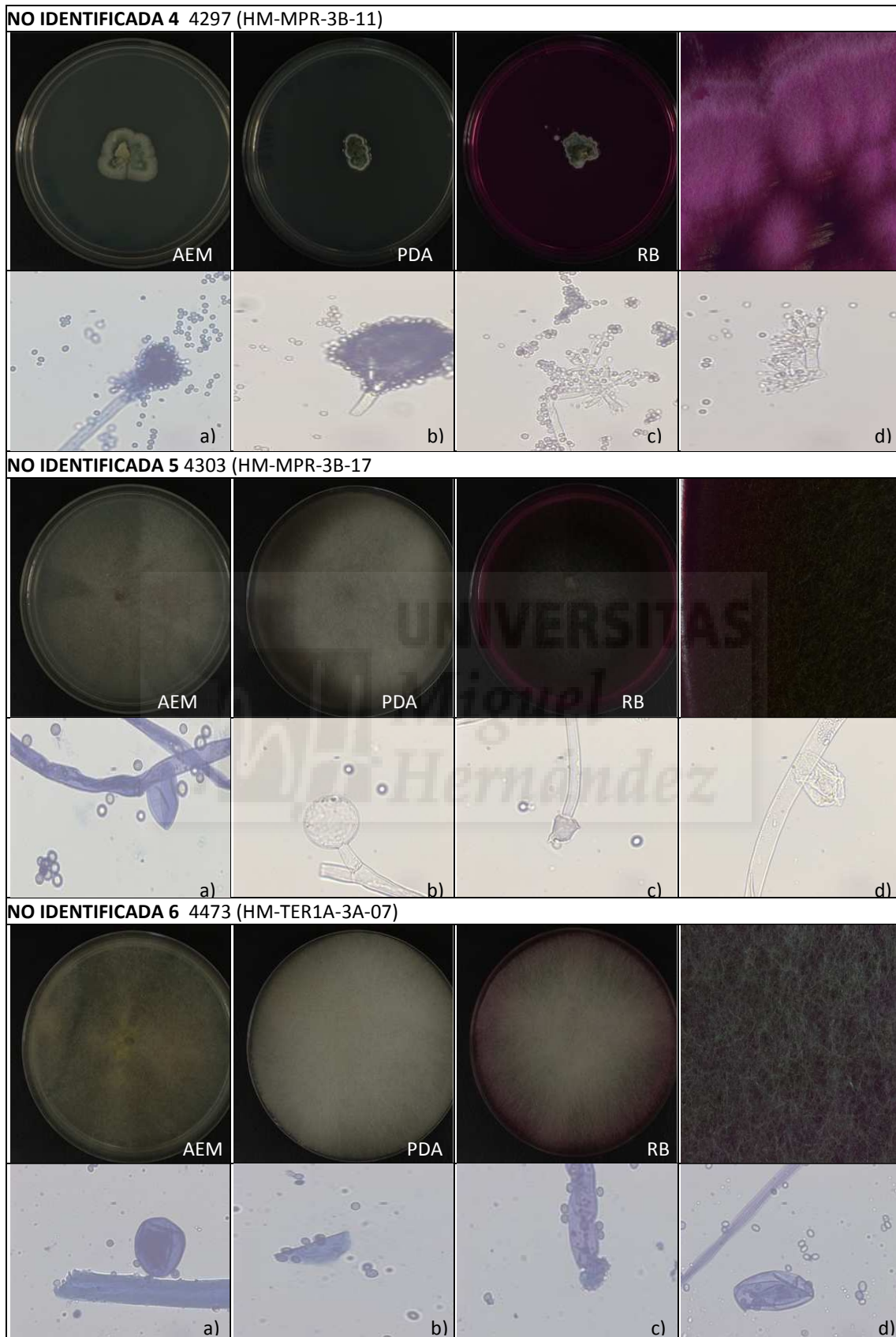


Figura 16b. Fenotipo de especies no Identificadas. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

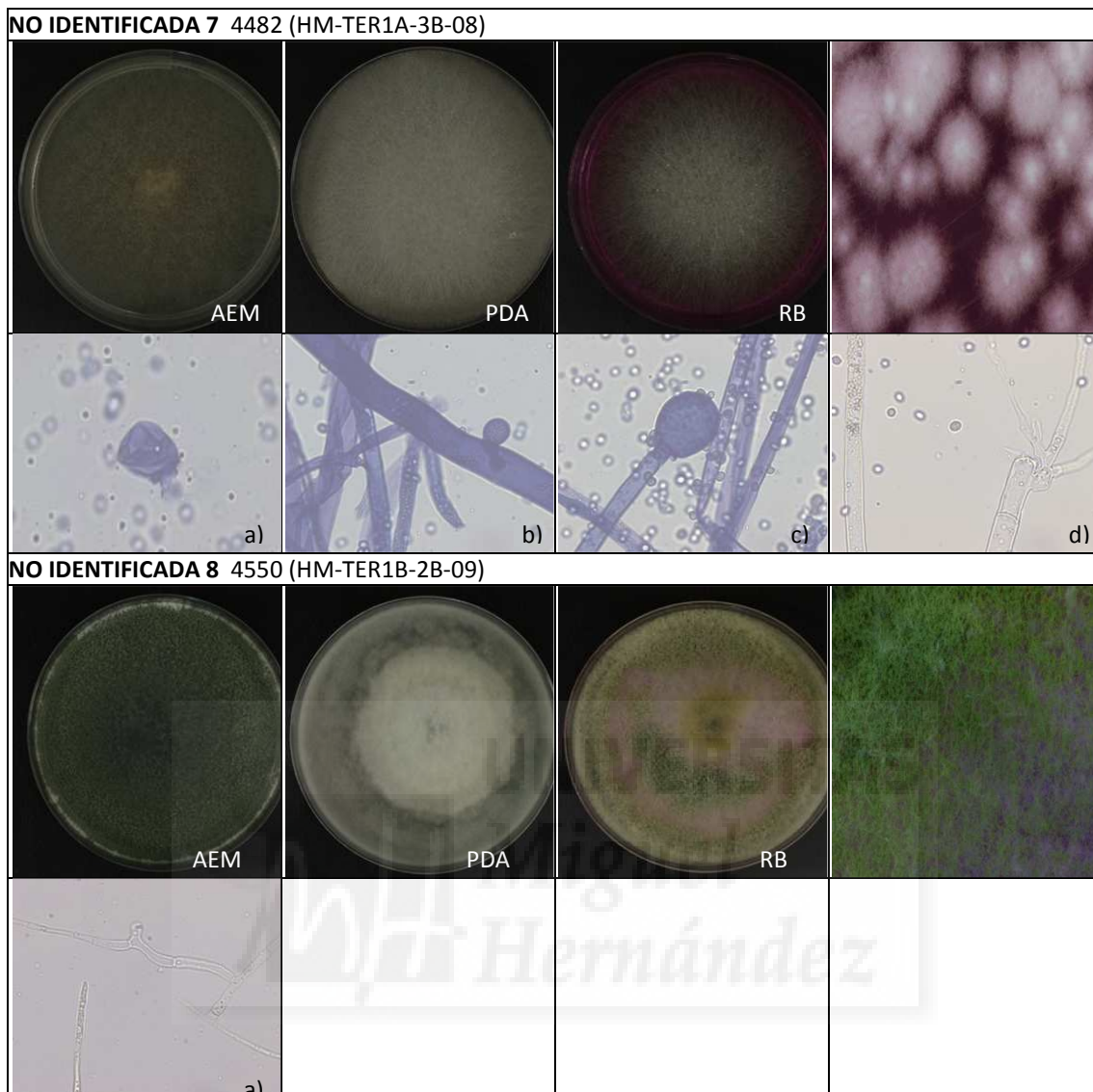


Figura 16c. Fenotipo de especies no Identificadas. Para cada especie se muestran morfotipos coloniales en AEM, PDA y RB (izquierda a derecha) y detalle macro de la colonia (fila superior); y preparaciones al microscopio óptico (40x) (fila inferior).

4.2. Comparativa con hongos aislados de otros hábitats

Los hongos obtenidos en el compostaje descrito en este trabajo fueron comparados con los detectados en otros trabajos en los que se emplean materias primas, técnicas de compostaje, escala, localización geográfica o método de estudio diferentes (Tabla 16a y b),

Tabla 16a. Características de los compostajes realizados en los trabajos empleados para el estudio comparativo (El significado de las variables se muestra en Tabla 16b).

Referencia	Material	Técnica	Escala	Localización	Método
1. Este trabajo	RV	VA	P	SP	C
2. Cahyani et al., 2004	RV	V	P	J	M
3. deGannes et al., 2013	RV	TR	P	TT	M
4. Dehghani et al., 2012	FORM	V	P	IR	C
5. Hultman et al., 2010	FORM	TR	I	FIN	M
6. Langarica-Fuentes et al., 2010	FORM	ST	I	UK	M
7. Ryckeboer et al., 2003b	RV	R	L	B	C
8. Anastasi et al., 2005	RV	V	I	IT	C
8. Anastasi et al., 2005	RA	VC	I	IT	C

Tabla 16b. Significado de las variables de los artículos utilizados en el estudio.

Variable	Significado
Material	
RV	Mezcla constituida principalmente por residuos vegetales
RA	Mezcla constituida principalmente por residuos animales (excrementos)
FORM	Mezcla constituida principalmente por fracción orgánica de residuos municipales
Técnica	
R	Reactor
ST	Pilas estáticas
TR	Tambor rotatorio
V	Pilas volteadas
VA	Pilas volteadas con aireación forzada
VC	Vermicompostaje
Escala	
I	Industrial
L	Laboratorio
P	Piloto
Localización	
B	Bélgica
FIN	Finlandia
IN	India
IR	Irán
IT	Italia
J	Japón
SP	España
TT	Trinidad Tobago
UK	Reino Unido
Método	
C	Técnicas cultivares (los microorganismos son cultivados)
M	Técnicas independientes de cultivo o moleculares

Los principales phyla representados entre los hongos implicados en el compostaje en todos los trabajos, al igual que en el que se presenta en este TFM, son Ascomycota y Basidiomycota, pero a diferencia de lo que ocurre aquí, en otros casos se han encontrado también hongos pertenecientes al phylum Zygomycota, y del phylum Oomycota adscrito al reino Chromista (Roskov et al., 2015). El inventario de los hongos detectados en este trabajo, junto con los descritos en los ocho artículos consultados dio como resultado una lista de 166 géneros diferentes asociados al compostaje. Entre ellos los representantes del phylum Ascomycota fueron mayoritarios constituyendo más del 80% de los géneros detectados en los trabajos (Figura 17). La clase Sordariomycetes, perteneciente a dicho phylum, fue la más ampliamente representada, seguida de Eurotiomycetes y Dothideomycetes (Figura 18). Los microorganismos incluidos en la clase Saccharomycetes, que incluye muchos de los hongos unicelulares conocidos como levaduras, también han sido descritos en varios de los trabajos contribuyendo en gran medida al total de eucariotas detectados en el proceso de compostaje. Los microorganismos eucariotas (hongos y chromistas) incluyeron géneros pertenecientes a 14 clases diferentes (Figura 14).

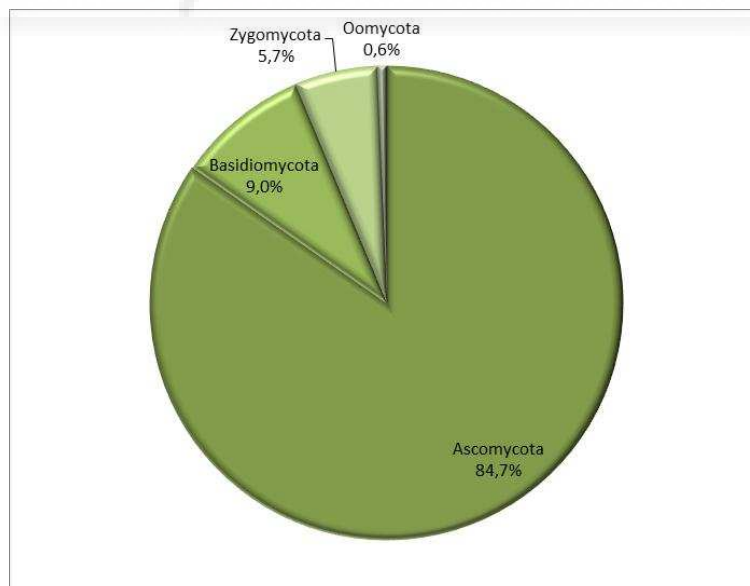


Figura 17. Distribución por phyla de los géneros fúngicos descritos en los trabajos analizados.

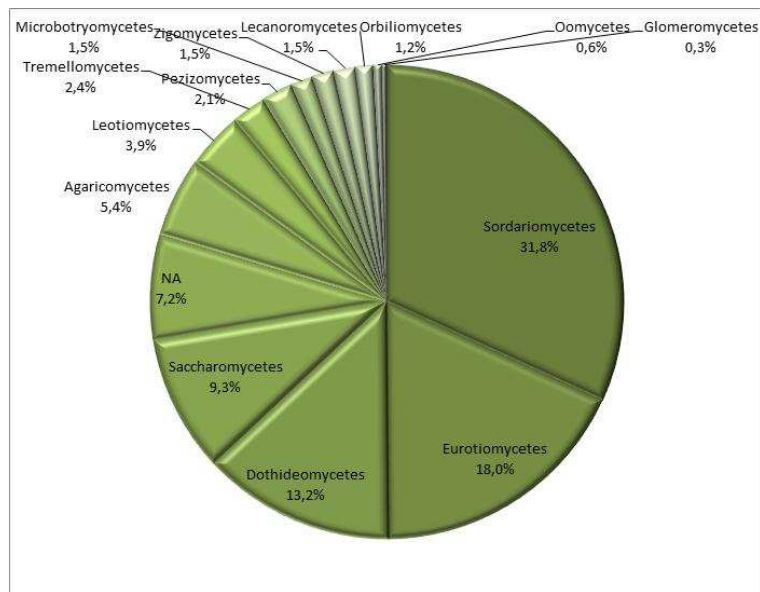


Figura 18. Distribución por clases de los géneros fúngicos descritos en los trabajos analizados. NA. No asignado.

Los microorganismos eucariotas se clasificaron de acuerdo a su frecuencia de detección en los 9 trabajos analizados. Los géneros que se detectaron en más de la mitad de los artículos, 4 o más artículos, se catalogaron como comunes o abundantes; los géneros detectados en 2 o 3, como medianamente comunes; y los descritos en un solo trabajo como específicos. Los microorganismos más frecuentemente descritos en los trabajos analizados pertenecieron a 21 géneros (Figura 19). Entre ellos destaca *Aspergillus*, que se detecta en todos los trabajos analizados. Adicionalmente, merecen mención especial los hongos *Acremonium*, *Cladosporium*, *Thermomyces*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Fusarium* por su presencia en muchos procesos. Un total de 61 géneros se incluyen en 2 a 3 artículos y los 84 restantes sólo aparecen en un artículo.

En la Figura 16 se muestra la frecuencia de distribución de los géneros microbianos eucariotas organizados por clases en los nueve artículos evaluados. En este caso destacan por su mayor diversidad los procesos desarrollados por Anastasi et al., 2005 (2 y 3) y deGannes et al., 2013 (5). En el primer caso se realizó un estudio exhaustivo de la microbiota fúngica cultivable en dos procesos diferentes de compostaje (2) y vermicompostaje (3) y dieron similares resultados a los expuestos en este trabajo (1). En el segundo trabajo se utilizaron técnicas de identificación independientes de cultivo y la diversidad encontrada fue mayor.

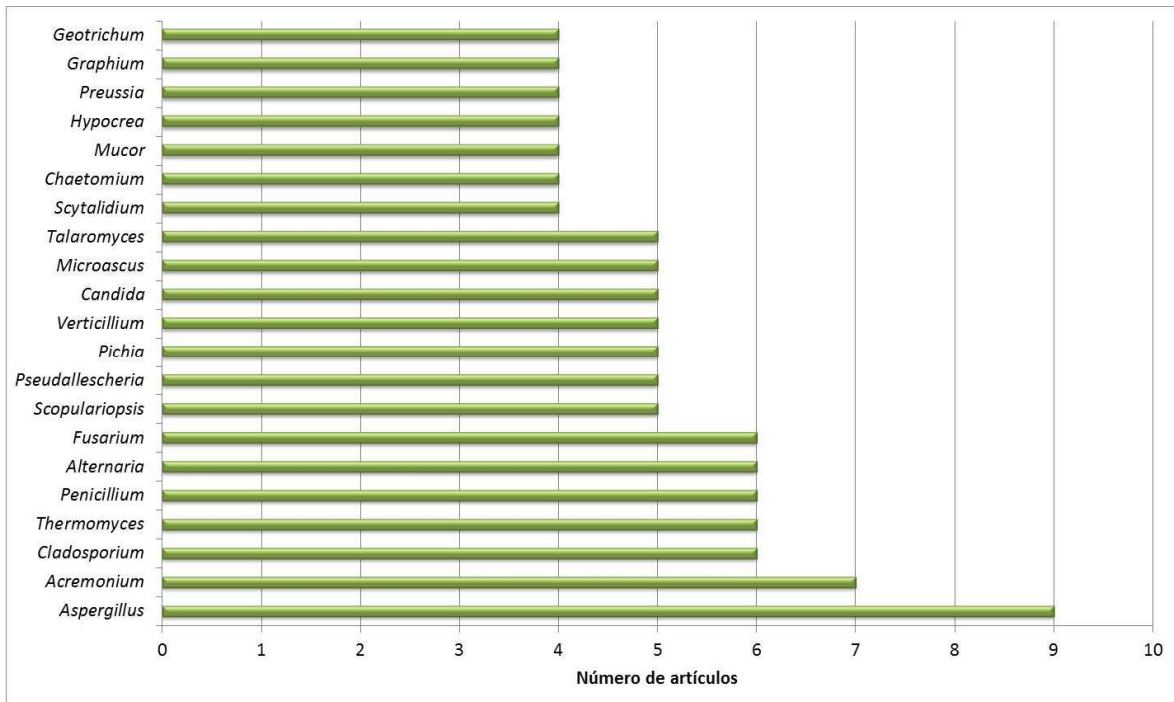


Figura 19. Géneros fúngicos más frecuentemente detectados en los trabajos analizados.

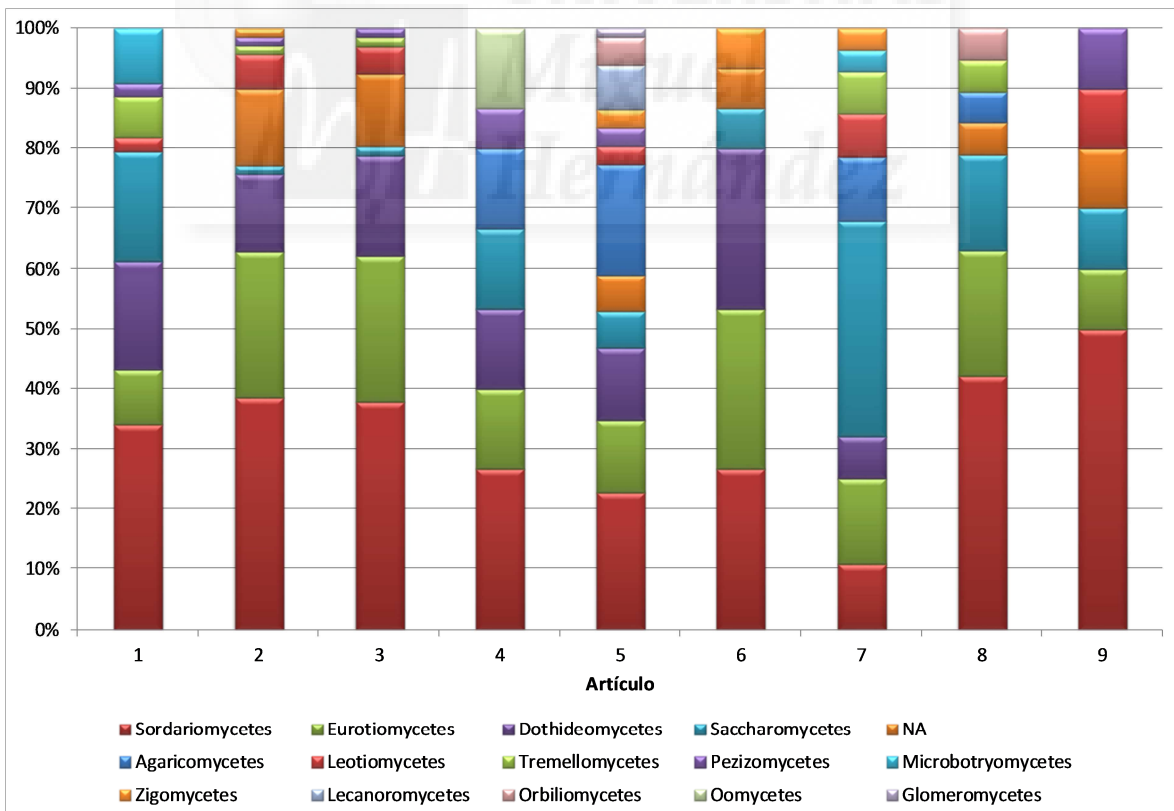


Figura 20. Frecuencia de distribución de los géneros fúngicos por Clases en los 9 artículos analizados. 1. Este trabajo; 2. Anastasi et al., 2005; 3. Anastasi et al., 2005; 4. Cahyani et al., 2004; 5. deGannes et al., 2013; 6. Dehghani et al., 2012; 7. Hultman et al., 2010; 8. Langarica-Fuentes et al., 2010; 9. Ryckeboer et al., 2003.

5. Conclusiones

El análisis de los resultados obtenidos en este trabajo permitió obtener las siguientes conclusiones:

1. El proceso de compostaje de residuos vegetales presenta una elevada diversidad fúngica.
2. Es preciso disponer de un catálogo de fenotipos macro y microscópicos de las cepas aisladas del proceso de compostaje de residuos vegetales para su correcto mantenimiento.
3. Los hongos del compostaje de residuos vegetales pertenecen mayoritariamente al phylum Ascomycota y los géneros más comunes son *Aspergillus*, *Fusarium* y *Gibellulopsis*.
4. La diversidad fúngica del proceso de compostaje de residuos vegetales es similar a la descrita en procesos que utilizan otros materiales, técnicas de compostaje, escala o localización geográfica y que emplean métodos de detección que implican cultivo.

6. Bibliografía

- Albrecht, R., Périssol, C., Ruaudel, F., Le Petit, J. y Terrom, G., 2010. Functional changes in culturable microbial communities during a co-composting process: carbon source utilization and co-metabolism. *Waste Management* 30, 764–770.
- Anastasi, A., Varese, G.C. y Marchisio, V.F., 2005. Isolation and identification of fungal communities in compost and vermicompost. *Mycologia*, 97, 33-44.
- Bidlingmaier, W., 1996. Odour emission from composting plants. En: *The Science of composting* (de Bertoldi, M., Sequi, P., Lemmes, B. y Papi, T., Eds), Vol I, 71-79. Blackie Academic and Professional, London, United Kingdom.
- Bueno, P., Díaz, M.J. y Cabrera, F., 2008. Factores que afectan al proceso de compostaje. En: *Compostaje* (Moreno, J. y Moral, R. Eds.), 111-140. Mundi Prensa, Madrid, España.
- Cahyani, V.R., Matsuya, K., Asakawa, S. y Kimura, M. 2004. Succession and phylogenetic profile of eukaryotic communities during the composting process of rice straw estimated by PCR-DGGE analysis. *Biology and Fertility of Soils*, 40, 334-344.

- Castaldi, P., Alberti, b., Merella, R. y Melis, P., 2005. Study of the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of compost maturity. *Waste Management*, 25, 209-213.
- Dashtban, M., Schraft, H., Syed, T.A. y Qin, W., 2011. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 1, 36-50.
- De Bertoldi, M., 2010. Production and utilization of suppressive compost: Environmental, food and health benefits. En: *Microbes at Work. From Wastes to Resources* (Insam, H., Franke Whittle, I., Goberna, M., Eds.), 153-170. Springer, Heidelberg, Germany.
- De Gannes, V., Eudoxie, G., Hickey y W.J. 2013. Insights into fungal communities in composts revealed by 454-pyrosequencing: implications for human health and safety. *Frontiers in Microbiology*, 4, 164-172.
- Dehghani, R., Asadi, M.A., Charkhloo, E., Mostafaie, G., Saffari, M. y Mousavi, G.A. 2012. Identification of fungal communities in producing compost by windrow method. *Journal of Environmental Protection*, 3, 61-67.
- Dix, N.J. y Webster, J., 1995. *Fungal Ecology*. Chapman & Hall, London, United Kingdom.
- Fitzpatrick, G.E., Worden, E.C. y Vendrame, W.A., 2005. Historical development of composting technology during the 20th century. *HortTechnology* 15, 48-51.
- García Cortés, V., 2004. *Introducción a la microbiología* (2ª Ed.). Euned, Costa Rica.
- Ghazifard, A., Kasra-Kermanshahi, R. y Far, Z.E., 2001. Identification of thermophilic and mesophilic bacteria and fungi in Esfahan (Iran) municipal solid waste compost. *Waste Management and Research*, 19, 257-261.
- Haruta, S., Nakayama, T., Nakamura, K., Hemmi, H., Ishii, M., Igarashi, Y. y Nishino, T. 2005. Microbial diversity in biodegradation and reutilization processes garbage. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99, 1-11.
- Haug, R.T., 1993. *The Practical Handbook of Compost Engineering*. Lewis Publishers, Boca Raton, EE.UU.
- Hawksworth, D., 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1, 5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 105, 1422-1432.
- Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C., Pegler, D.M., 1995. *Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi*. 8th edition. CAB International, Wallingford, England.
- Howard, A. y Wad, Y.D. 1931. *The waste products of agriculture, their utilization as hums*. Oxford University Press, London, United Kingdom.
- Hultman, J., Vasara, T., Partanen, P., Kurola, J., Kontro, M.H., Paulin, L., Auvinen, P. y Romantschuk, M. 2010. Determination of fungal succession during municipal solid waste composting using a cloning-based analysis. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 472-487.

- Jhorar, B. S., Phogat, V. y Malik, E., 1991. Kinetics of composting rice straw with glue waste at different C/N ratios in a semiarid environment. *Arid Soil Restoration and Rehabilitation*, 5, 297-306.
- Jurado M, López MJ, Suárez-Estrella F, Vargas-García MC, López-González JA y Moreno J. (2014). Exploiting composting biodiversity: Study of the persistent and biotechnologically relevant microorganisms from lignocellulose-based composting. *Bioresource Technology* 162, 283-293.
- Kiehl, F.J., 1985. Fertilizantes orgánicos. Agronomica Ceres Ltda, Sao Paulo, Brasil.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. y Stalpers, J.A. 2008. *Dictionary of the Fungi*. (10th Ed.). Wallingford: CABI. p. 221.
- Langarica-Fuentes, A., Zafar, U., Heyworth, A., Brown, T., Fox, G. y Robson, G.D. 2014. Fungal succession in an in-vessel composting system characterized using 454 pyrosequencing. *FEMS Microbiology Ecology*, 88, 296-308.
- Liang, C., Das, K.C. y McClendon, R.W., 2003. The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. *Bioresource Technology*, 86, 131-137.
- Lilley, J. y Chinabut. S., 1999. DNA-based molecular diagnostic techniques: research needs for standardization. Aciar, Bangkok, Tailandia. Recuperado el 28 de Julio de 2015 de <http://www.fao.org/docrep/005/x4946e/x4946e0k.htm#fn5>.
- López, M.J., Elorrieta, M.A., Vargas-García, M.C., Suarez-Estrella, F. y Moreno, J. 2002. The effects of aeration on the biotransformation of lignocellulosic wastes by white-rot fungi. *Bioresource Technology* 81: 123–129.
- López, M.J., Masaguer, A., Paredes, C., Roca, L., Ros, M., Salas, M.C. y Boluda, R., 2015. De Residuo a Recurso: El Camino hacia la Sostenibilidad. III Recursos Orgánicos. Aspectos Agronómicos y Medioambientales. Residuos orgánicos y agricultura intensiva (Moreno, J., Moral, R., García, J.L., Pascual, J.A. y Bernal, M.P., Eds.). Mundi Prensa, Madrid, España.
- López-González, J.A., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M.C., López, M.J., Jurado, M.M. y Moreno, J., 2015a. Dynamics of bacterial microbiota during lignocellulosic waste composting: studies upon its structure, functionality and biodiversity. *Bioresource Technology*, 175, 406-416.
- López-González, J.A., Vargas-García, M.C., López, M.J., Suárez-Estrella, F., Jurado, M.M. y Moreno, J., 2015b. Biodiversity and succession of mycobiota associated to agricultural lignocellulosic waste-based composting. *Bioresource Technology*, 187, 305-313.
- Madejón, P., Murillo, J.M., Marañón, T., Cabrera, F. y López, R., 2002. Bioaccumulation of As, Cd, Cu, Fe and Pb in wild grasses affected by the Aznalcóllar mine spill (SW Spain). *Science of the Total Environment* 290, 105-120.
- Miyatake, F. y Iwabuche, K., 2006. Effect of compost temperature on oxygen uptake rate, specific growth rate and enzymatic activity of microorganisms in dairy cattle manure. *Bioresource Technology*, 97, 961-965.

- Mora, C., Tittensor, D., Adl, S., Simpos, A. y Worm, B., 2011. How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *PLoS Biol* 9(8): e1001127. doi:10.1371/journal.pbio.1001127
- Moral, R. y Muro, J., 2008. Manejo, dosificación y gestión agronómica del compost. En: *Compostaje* (Moreno, J. y Moral, R., Eds.), 351-378. Mundi Prensa, Madrid, España.
- Moral, R., Paredes, C., Bustamante, M.A., Marhuenda-Egea, F. y Bernal, M.P., 2009. Utilization of manure compost by high-value crops: safety and environmental challenges. *Bioresource Technology* 100, 5454-5460.
- Moreno, J. y Moral, R. (Eds.), 2008. *Compostaje*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Moreno, J. y Mormeneo, S., 2008. Microbiología y bioquímica del proceso de compostaje. En: *Compostaje*. (Moreno, J. y Moral, R., Eds), 111-140. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes. *Boletín Oficial del Estado*, 10 de Julio de 2013, 164, 51119-51207.
- Rodale, J.I., Rodale, R., Olds, J., Goldman, M.C., Franz, M., Minnich, J., 1960. *The complete book of composting*. Rodale Books, Emmaus, PA, EEUU.
- Roskov, Y., Abucay, L., Orrell, T., Nicolson, D., Kunze, T., Culham A., Bailly, N., Kirk, P., Bourgoïn, T., DeWalt, R.E., Decock, W. y De Wever A., 2015. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 23rd June 2015. Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands.
- Ryckeboer, J., Mergaert, J., Vaes, K., Klammer, S., de Clercq, D., Coosemans, J., Insam, H. y Swings, J., 2003a. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiology*, 53, 349-410.
- Ryckeboer, J., Mergaert, J., Coosemans, J., Deprins, K. y Swings, J. 2003b. Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 127-133.
- Salar, R. y Aneja, K.R., 2007. Thermophilic fungi: taxonomy and biogeography. *Journal of Agricultural Technology*, 3, 77-107.
- Sánchez-Monedero, M.A., Roig, A., Paredes, C. y Bernal, M.P., 2001. Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures. *Bioresource Technology*, 78, 301-308.
- Santos, M., Diáñez, F., González del Valle, M. y Tello, J.C., 2008. Grape marc compost: microbial studies and suppression of soil-borne mycosis in vegetable seedlings. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1493-1505.
- Schmidt, J.P. y Mueller, G.M., 2007. An estimate of the lower limits of global fungal diversity. *Biodiversity Conservation*, 16, 99-111.
- Schoch, C.L., Crous, P.W., Groenewald, J.Z.S., Boehm, E.W.A., Burgess, T.I., Gruyter, J.De, Hoog, G.S. De, Dixon, L.J., Grube, M., Gueidan, C., Harada, Y., Hatakeyama, S. et al. 2009. A

- class-wide phylogenetic assessment of Dothideomycetes" (PDF). *Studies in Mycology*, 64, 1–15.
- Sztern, D. y Pravia, M. , 2002. Manual para la Elaboración de Compost –Bases Conceptuales y Procedimientos. Organización Panamericana de la salud, Chile.
- Taylor, J.W., Spataphora, J., O'Donnell, K., Lutzoni, F., James, T., Hibbet, D.S., Geiser, D., Bruns, T.D. y Blackwell, M., 2004. The Fungi. En: *Assembling the tree of life* (Cracraft, J., Donoghue, M.J., Eds.), 171-194. Oxford University Press, Oxford, Reino Unido.
- Tchobanogolus, G., Theisen, H. y Vigil, S. 1994. *Gestión integral de residuos sólidos*. McGraw-Hill, Madrid, España.
- Tomati, U., Madejon, E., y Galli, E., 2000. Evolution of humic acid molecular weight as an index of compost stability. *Compost Science and Utilization*, 8, 108-115.
- Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A. y Itävaara, M. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: A review. *Bioresource Technology*, 72, 169-183.
- Urbano , P., 1992. *Tratado de Fitotecnia General*. Mundi-prensa, Madrid, España.
- Vargas, M.C. y Suárez, F., 2008. Efecto de la aplicación del compost sobre las propiedades biológicas del suelo. En: *Compostaje* (Moreno, J. y Moral, R., Eds.), 305-328. Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Vargas-García, M.C., Andreu, F.J., Fernández, L.A., Fernándezs, F.J., García, J.L., Melgar, R., Moral, R., Moreno, J., Suárez-Estrella, F., 2014. *De Residuo a Recurso. El Camino hacia la Sostenibilidad. I. Residuos Orgánicos. Residuos Agrícolas*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Vijay, B., Sharma, S.R. y Lakhanpal, T.N., 2002. Role of thermophilic fungi in compost production for *Agaricus bisporus*. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 32, 204–210.
- Voigt, K. y Kirk, P.M., 2011. Recent developments in the taxonomic affiliation and phylogenetic positioning of fungi: impact in applied microbiology and environmental biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90, 41-57.
- Waksman, S.A., Cordon, T.C. y Hulpoi, N., 1939. Influence of temperature upon the microbiological population and decomposition processes in composts of stable manure. *Soil Science*, 47, 83-114.
- Walker, G.M. y White, N.A. 2011. *Introduction to Fungal Physiology*. En: *Fungi: Biology and Applications*, 2nd Ed (Kavanagh, K., Ed.) . John Wiley & Sons, Ltd, Oxford, U.K.
- White, T. J., Bruns T., Lee S. y Taylor, J.W., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18, 315-322.
- Wild, A., 1992. *Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell*. Mundi-Prensa, Madrid, España.

- Zeng, G., Huang, D., Huang, G., Hu, T., Jiang, X., Feng, C., Chen, Y.N., Tang, L. y Liu, H., 2006. Composting of lead-contaminated solid waste with inocula of white-rot fungus. *Bioresour. Technology*, 98, 320-326.
- Zhu, N., 2006. Composting of high moisture content swine manure with corncob in a pilotscale aerated static bin system. *Bioresour. Technology*, 97, 1870-1875.
- Zucconi, F., Forte, M., Monaco, A. y de Bertoldi, M. 1981. Biological evaluation of compost maturity. *Biocycle*, 22, 54-57.

