



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ENZIMÁTICA DE MICROORGANISMOS DESCOMPONEDORES DE UN ABONO
ORGÁNICO**

**TESIS PROFESIONAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

PRESENTA:
PÉREZ SERRANO CINTIA

DIRECTORA DE TESIS:
M. en Cs. LUCERO MONTSERRAT CUAUTLE GARCÍA

CO-DIRECTORA DE TESIS:
DRA. VIANEY MARÍN CEVADA



PUEBLA, PUE., 11 DE MAYO DEL 2023

La presente tesis titulada: “Aislamiento, identificación y evaluación de la actividad enzimática de microorganismos descomponedores de un abono orgánico”, realizada por PÉREZ SERRANO CINTIA ha sido revisada y aprobada por el siguiente consejo particular, para obtener el título de:

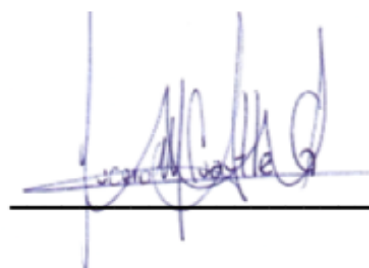
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
Facultad de Ciencias Biológicas

Consejo Particular integrado por:

Firma

Director de Tesis:

**M. en Cs. Lucero Montserrat Cuautle
García**



Co-directora de Tesis:

Dra. Vianey Marín Cevada



Asesor:



Dra. Dalia Molina Romero



Asesor:

Dra. Sombra Patricia Rivas Arancibia



Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP
Puebla, Puebla, México a 11 de Mayo del 2023.



El presente trabajo forma parte del GRUPO/CUERPO DE INVESTIGACIÓN denominado: COMUNIDADES SOSTENIBLES, RESILIENTES E INCLUYENTES (BUAP-GI-22074) , de la línea de investigación: USO Y CONSERVACIÓN DE RECURSOS BIÓTICOS en la Facultad de Ciencias Biológicas y en colaboración con el Cuerpo Académico BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR MICROBIANA (BUAP-CA-244) del Instituto de Ciencias BUAP.

Dicho trabajo fue financiado por la empresa de producción porcina “Granjas Carroll de México, S. de R.L. de C.V.” bajo el proyecto titulado: **Diagnóstico y evaluación de estudios de efectividad biológica, de productos derivados de Granjas Carroll S. de R.L. de C.V.”** .

AGRADECIMIENTOS

A los integrantes de la comisión revisora y miembros del jurado:

1. Maestra Lucero Montserrat Cuautle García, FCB-BUAP
2. Doctora Vianey Marín Cevada, ICUAP-BUAP
3. Doctora Dalia Molina Romero, Comité tutorial, FCB-BUAP
4. Doctora Sombra Patricia Rivas Arancibia, Comité tutorial, FCB-BUAP

Mi profunda gratitud, a la doctora Vianey Marín Cevada, por su invaluable apoyo, tiempo y enseñanzas a lo largo de la realización de este trabajo. Agradezco de manera sincera su compromiso en enseñarme a utilizar equipos de laboratorio, técnicas y procedimientos que me permitieron adquirir importantes habilidades para mi formación profesional. Valoro enormemente la amabilidad y el trato que siempre me brindó durante mi estadía en el laboratorio, así como su paciencia y disposición para responder a mis preguntas y orientarme en el camino de la investigación. La tomaré siempre como un gran ejemplo no solo como investigadora sino también como ser humano. Aprecio su apoyo en momentos difíciles, por transmitirme día a día su positividad y pasión por la ciencia. Su influencia en mi formación profesional será siempre recordada y apreciada.

Mi profunda gratitud a la maestra Lucero Montserrat Cuautle García por haber depositado su confianza en mí para la realización de este trabajo. Agradezco de manera especial todo el apoyo, tiempo y enseñanzas que me brindó durante este proceso. Valoro muchísimo la oportunidad que me brindó de involucrarme en el desarrollo del trabajo en la empresa, lo cual me permitió conocer más sobre el mundo laboral y enriquecer mi formación profesional. Agradezco su paciencia y dedicación en la supervisión y guía de este proyecto, así como su disposición para responder a mis preguntas y orientarme en todo momento. Su influencia en mi formación profesional será siempre recordada y apreciada.

Al Biólogo Agustín Licon Carrasco, por enseñarme una de las formas en las que se puede trabajar en campo, por ayudarme a cuestionar todo para obtener conclusiones.

A Granjas Carroll de México, S. de R.L. de C.V. ® por el financiamiento y apoyo brindado para la obtención de cerdaza para su procesamiento y para la realización de este trabajo.

A la Facultad de Ciencias Biológicas BUAP y al Instituto de Ciencias Microbiológicas ICUAP- BUAP, por el apoyo económico y académico para la realización de este proyecto, en especial a la Facultad, por el apoyo económico para participar en el Congreso Internacional de Biotecnología.

A mis padres, por todo lo que han hecho por mí a lo largo de mi vida. Gracias por forjar en mí un espíritu de superación y enseñarme que los sueños, por más inalcanzables que parezcan, son los que nos impulsan a convertir las posibilidades en realidad. Agradezco de manera especial por darme la oportunidad de estar aquí, cumpliendo mis sueños y por creer en ellos, apoyándome a cada paso del camino. Su inquebrantable confianza en mí ha sido un motor para lograr todo lo que he alcanzado hasta el momento. Su apoyo incondicional ha sido fundamental para mí, siempre estaré agradecido por tener a los mejores padres del mundo. Gracias por hacer que todo sea posible y por ser mi mayor inspiración.

A mi amiga Monse, por todo el apoyo emocional y académico que me has brindado durante estos años. Gracias por estar ahí cuando más lo necesitaba, por motivarme a creer en mí y por ayudarme a reconocer mis virtudes y defectos para mejorar día a día. Gracias por tu ayuda incondicional, siempre dispuesta a echarme una mano sin esperar nada a cambio. Sin ti, este trabajo no hubiera llegado a su fin, y por eso quiero que sepas que valoro enormemente todo lo que has hecho por mí. Me siento afortunada de haber encontrado en ti una amiga que no solo me brinda su apoyo, sino que también me ha enseñado importantes valores como la empatía y la bondad hacia los demás. Gracias por tu valiosa amistad amiga, te quiero.

A Ady, una amiga que impulsó mis ganas de crecer, que me enseñó a no tener miedo, a confiar en mi capacidad y a estar dispuesta a siempre aprender algo nuevo, gracias por compartir conmigo tu pasión por la vida y nuestra pasión por el estudio de ella, siempre estaré agradecida por haberte conocido al inicio de una gran etapa de la vida.

A Ceci, Indi y Lex por orientarme y ayudarme en el laboratorio, por hacer el espacio de trabajo un lugar ameno, por brindarme su tiempo, amistad y conocimiento siempre, gracias por enseñarme un poco del mundo de la investigación a partir de las largas charlas que me daban, agradezco a la vida por haberlos conocido.

A Fany, Indi y Lex por confiar en mí y darme hospedaje en sus hogares para poder culminar con este trabajo sin tantos gastos económicos y emocionales, muchas gracias.

A mis profesores, Dr. Lino Zumaquero, Dra. Dalia Molina, Dra. Berenice Venegas, Dra. Xóchitl Arteaga, Mtro. José Fermin Gómez, Mtra. María Rosete, Mtra. María del Carmen Navarro, Dra. Palestina Guevara, Dra. Etelvina Gándara, Dr. Sandoval Ruíz, Dra. Adriana Martinez, Dr. Carlos Ruíz, Dra. Aideé Montiel, Mtro. Fauno Alberto, Dra. Rosa Emilia Pérez, Mtro. Ubaldo Quiroz, Dr. Michel E. Hendrickx Reners, quienes me motivaban día con día a seguir en la carrera gracias a la pasión que transmiten al dar sus clases y compartir sus conocimientos, gracias a ellos pude enamorarme y apasionarme de la carrera que estudié, forman una parte sumamente importante para lograr que esté aquí.

Gracias a los amigos que conocí a lo largo de la carrera y formaron parte importante de mis días, Juan, Denisse, Ohto, Anzures, Jorge, Karen, Vale, Naye, Néstor, Isela, Moni, Ángel, Aylín, Edgar, Arys, Is, gracias por hacer más bonitos los días de universidad.

DEDICATORIA

Dedico con mucho cariño este trabajo especialmente, a mis padres, ya que su apoyo y amor incondicional son fundamentales en cada uno de mis logros. Su presencia y guía han sido esenciales para alcanzar mis metas, y estoy muy agradecido por el esfuerzo y sacrificio que han realizado por mí. Gracias a mi padre por enseñarme la perseverancia, la responsabilidad y la independencia, y a mi madre por siempre estar a mi lado, escuchándome, apoyándome y dándome consejos. Espero que se sientan orgullosos al ver este trabajo, ya que es una muestra de su gran influencia y amor en mi vida. Los amo de todo corazón.

A mis hermanitas: a Andy, por estar para mí las 24 horas, por ser un gran ejemplo en nuestra familia, por creer en mí, por todo tu cariño y amor, por tus abrazos y tus palabras, por hacerme entender que debe haber un equilibrio en mi vida personal y académica, por tu apoyo incondicional, por ayudarme a pensar antes de actuar; a Liz, por ayudarme a confiar y creer en mí, por regalarme momentos llenos de alegría, por siempre estar conmigo, a Ivo, por regalarme abrazos cuando sentía que ya no podía más, por echarme porras, por darme su tierno amor, las amo mucho hermanitas.

A mi abuelita, porque sé que sigues conmigo; siempre estás presente en cada paso que doy, porque al igual que mis padres, celebrabas mis triunfos y me acompañabas en mis fracasos, porque sé que todo lo bueno que tengo es gracias a tí, por enseñarme a valorar cada logro académico y personal, gracias a su sabiduría y experiencia he aprendido a disfrutar cada paso del camino, gracias por todo el amor y apoyo que me diste siempre, te amo abuelita.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIA.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	
ÍNDICE DE TABLAS.....	III
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
RESUMEN.....	V
ABSTRACT	VI
I. INTRODUCCIÓN	2
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Residuos agroindustriales.....	4
2.2 Composición de la cerdaza.....	4
2.3 Métodos de descomposición y tratamiento de desechos porcinos.....	5
2.4 Reino Fungi.....	7
2.4.1 Género fúngico <i>Sarocladium</i> spp.....	8
2.4.2 Género fúngico <i>Fusarium</i> spp.....	9
2.4.3 Género fúngico <i>Streptomyces</i> spp.....	10
2.5 Actividad enzimática.....	10
2.5.1 Evaluación de la actividad enzimática celulolítica de hongos microscópico	11
2.5.2 Evaluación de la actividad enzimática ligninolítica de hongos microscópicos	11
2.6 Compostaje.....	13
III. HIPÓTESIS	14

IV. OBJETIVOS	15
4.1. Objetivo general.....	15
4.2. Objetivos específicos.....	15
V. MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
5.1 Aislamiento de los microorganismos.....	16
5.2 Preservación de los aislamientos.....	17
5.3 Identificación morfológica de los aislados	17
5.4 Evaluación cualitativa y semi-cuantitativa de la actividad enzimática celulolítica	18
5.5 Evaluación cualitativa de la actividad enzimática ligninolítica.....	19
5.6 Caracterización de los aislados fúngicos seleccionados para inocularse en los ensayos de compostaje.....	19
5.7 Identificación molecular de las cepas seleccionadas con mayor capacidad ligninolítica y celulolítica.....	20
5.7.1 Obtención del ADN genómico.....	20
5.7.2 Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR).....	20
5.7.3 Electroforesis.....	21
5.7.4 Purificación de Productos de PCR.....	22
5.7.5 Cuantificación.....	22
5.7.6 Análisis de secuencias genéticas obtenidas y construcción de árboles filogenéticos.....	22
5.8 Ensayos de antagonismo.....	22

5.9 Bioensayos de conversión de la cerdaza con un consorcio microbiano.....	23
5.10 Obtención de parámetros físicoquímicos.....	25
VI. RESULTADOS.....	26
6.1 Aislamiento y purificación de cepas	26
6.2 Evaluación de la actividad enzimática ligninolítica y celulolítica.....	29
6.3 Caracterización de los aislados fúngicos seleccionadas para la degradación de la cerdaza.....	34
6.4 Identificación molecular.....	35
6.4.1 Análisis de secuencias.....	35
6.5 Ensayos de antagonismo.....	37
6.6 Compostaje.....	39
VII. DISCUSIÓN.....	50
7.1 Aislamiento y purificación de hongos microscópicos.....	50
7.2 Identificación molecular de las cepas seleccionadas con mayor capacidad ligninolítica y celulolítica.....	51
7.3 Antagonismo.....	52
7.4 Actividad enzimática.....	53
7.4.1 Actividad enzimática celulolítica.....	53
7.4.2 Actividad enzimática ligninolítica.....	54
7.4.2.1 Lacasa y Lignino Peroxidasa.....	55
7.4.2.2 Lacasa.....	56
7.5 Compostaje.....	56
7.5.1 Temperatura.....	58

7.5.2 pH.....	59
7.5.3 Humedad.....	60
7.5.4 Materia orgánica (%).....	61
7.5.5 Carbono (%).....	62
7.5.6 Relación Carbono/ Nitrógeno.....	63
7.5.7 Conductividad eléctrica (dS/m).....	64
7.5.8 Nitrógeno (%), Fósforo (%) y Potasio (%).....	65
7.5.9 Sodio.....	68
7.5.10 Densidad aparente.....	69
VIII.CONCLUSIONES.....	70
IX. PERSPECTIVAS.....	71
X. REFERENCIAS.....	72
XI. ANEXOS.....	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos del proceso de compostaje de la cerdaza.

Tabla 2. Crecimiento del micelio de hongos filamentosos aislados de muestra de cerdaza.

Tabla 3. Crecimiento del micelio de hongos filamentosos aislados de muestra de cerdaza.

Tabla 4. Crecimiento de los aislados fúngicos sobre el medio agar sustrato (cerdaza).

Tabla 5. Evaluación cualitativa de la actividad enzimática celulolítica y ligninolítica de los aislados fúngicos pertenecientes al género *Fusarium*.

Tabla 6. Evaluación cualitativa de la actividad enzimática celulolítica y ligninolítica de los aislados fúngicos.

Tabla 7. Tabla resumen de la evaluación cualitativa de la actividad enzimática celulolítica y ligninolítica de los aislados fúngicos pertenecientes al género *Fusarium*.

Tabla 8. Tabla resumen de la evaluación semi-cuantitativa y cualitativa de la actividad enzimática celulolítica y ligninolítica de los aislados fúngicos.

Tabla 9. Información de las especies más relacionadas a las especies identificadas molecularmente en este trabajo.

Tabla 10. Ensayos de antagonismo de aislados fúngicos contra aislados de morfologías pertenecientes al género *Fusarium*.

Tabla 11. Coeficiente de correlación y determinación de las relaciones entre variables abióticas registradas durante el proceso de compostaje.

Tabla 12. Muestras de composta pasadas a través de un tamiz de 2 mm.

Tabla 13. Peso en gramos de partículas >1.9 mm de la composta, tomados a partir de una muestra de 100 gramos.

Tabla 14. Muestras de cerdaza después del proceso de compostaje.

Tabla 15. Tabla comparativa de los cambios en los valores de parámetros fisicoquímicos evaluados durante el proceso de compostaje (64 días) y el valor permitido por la NMX-AA-180-SCFI-2018, TMECC (2002) y CCME (2005).

Tabla 16. Densidad aparente de la composta en los cuatro tratamientos.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama resumen de metodología

Figura 2. Regiones del ADN ribosomal

Figura 3. Bandas de ADN de actinobacterias sobre gel de agarosa

Figura 4. Bandas de ADN de hongos sobre gel de agarosa

Figura 5. Árbol de máxima verosimilitud (ML) y el modelo Tamura-Nei obtenido del ADN combinando las secuencia de dos loci (D1/D2 e ITS).

Figura 6. Muestra inicial de la cerdaza que se sometió al proceso de compostaje.

Figura 7. Cambios en la temperatura, pH y humedad durante el proceso de compostaje en los diferentes tratamientos.

Figura 8. Relación existente entre la A) temperatura y humedad B) temperatura y pH C) humedad y pH obtenida a lo largo de 64 días de composta.

Figura 9. Cambios en los parámetros fisicoquímicos al inicio y al final del proceso de compostaje

RESUMEN

La producción de alimentos de origen animal es una de las principales actividades económicas en México, la cual genera una gran cantidad de desechos orgánicos que contienen nutrientes con posible uso en el sector agrícola si se les da un tratamiento adecuado. En este trabajo se evaluó la efectividad del uso de microorganismos como biodegradadores de cerdaza (desecho de producción porcina) con potencial de ser utilizados en el proceso de compostaje, minimizar los daños ambientales y obtener un producto. A partir de una muestra de cerdaza se obtuvieron 15 aislados con apariencia filamentosa, los que se caracterizaron mediante su morfología macro y microscópica. Posteriormente, se evaluó su actividad enzimática mediante pruebas cualitativas con colorantes azoicos (naranja de metilo, rojo congo), guayacol y ácido tánico, los cuales permitieron evidenciar, a partir de la presencia de halos, la producción de enzimas como celulasa, lacasa y óxido peroxidasa respectivamente, encargadas de degradar los dos principales componentes de la cerdaza: lignina y celulosa. A partir de estos resultados se seleccionaron dos cepas que presentaron mayor secreción de enzimas celulolíticas y ligninolíticas y se llevó a cabo su identificación molecular. Se identificaron un total de ocho miembros pertenecientes al género *Fusarium*, cuatro al género *Streptomyces* y dos aislados del género *Sarocladium*, siendo estos últimos los que mostraron mayor potencial de degradación de la cerdaza. Por lo anterior, se evaluaron mediante ensayos de antagonismo, en donde se observó que no se antagonizan entre ellas, pero podrían inhibir el crecimiento de aislados identificados como *Fusarium* spp. Por último, a partir de un proceso de compostaje, llevado a cabo durante 64 días, se evaluó el potencial que tienen las dos cepas de *Sarocladium* spp. para degradar a la cerdaza mediante su co-inoculación monitoreando humedad, temperatura y pH y evaluando los parámetros fisicoquímicos obtenidos en la composta, a partir de estos resultados se observa que las condiciones no estériles y la inoculación de estas cepas tienen el potencial de degradar a la cerdaza para ser usada como composta ideal, siempre y cuando se le adicione 0.3 % de P y se aumente un 3.1 la relación C/N.

ABSTRACT

Animal food production is one of the main economic activities in Mexico, which generates a large amount of organic waste containing nutrients that can be potentially used in the agricultural sector with proper treatment. This study evaluated the effectiveness of using microorganisms as biodegraders of pig manure (a byproduct of pig production) with the potential to be used in the composting process, minimizing environmental damage and obtaining a product. Fifteen filamentous isolates were obtained from a sample of pig manure, which were characterized based on their macroscopic and microscopic morphology. Subsequently, their enzymatic activity was evaluated through qualitative tests using azoic dyes (methyl orange, Congo red), guaiacol, and tannic acid. The presence of halos indicated the production of enzymes such as cellulase, laccase, and peroxidase, responsible for degrading the two main components of pig manure: lignin and cellulose. Based on these results, two strains that exhibited higher secretion of cellulolytic and ligninolytic enzymes were selected, and their molecular identification was carried out. A total of eight members belonging to the genus *Fusarium*, four to the genus *Streptomyces*, and two isolates from the genus *Sarocladium* were identified. The latter showed the greatest potential for degrading pig manure. Therefore, antagonism assays were conducted, which revealed no antagonistic interactions among the strains but indicated the potential for inhibiting the growth of isolates identified as *Fusarium* spp. Finally, a composting process was conducted for 64 days to assess the potential of the two *Sarocladium* spp. strains to degrade pig manure through co-inoculation. The moisture, temperature, and pH were monitored, and the physicochemical parameters obtained in the compost were evaluated. The results showed that non-sterile conditions and inoculation with these strains have the potential to degrade pig manure to be used as an ideal compost, provided that 0.3% P is added and the C/N ratio is increased by 3.1.

I. INTRODUCCIÓN

En México, cada año se generan aproximadamente 1.8 millones de toneladas de carne de cerdo (SIAP, 2019), lo que produce una gran cantidad de desechos que son arrojados sin regulación alguna al entorno, como campos agrícolas, ríos, vertederos y drenajes. Estos desechos son una de las principales causas de la contaminación del medio ambiente y de la disminución de la calidad del suelo, del aire (García et al., 2010) y son partícipes en la merma de nutrientes del suelo y la reducción de actividad biológica (Ghosh et al., 2004).

La gestión inadecuada de los desechos de cerdos es responsable del 13% de los gases y compuestos de efecto invernadero emitidos a la atmósfera (FAO, 2013). Aunque, si se manejan y tratan adecuadamente, pueden ser una fuente valiosa de nutrientes y utilizarse como biofertilizantes, ya que incrementan la retención del agua y mejoran el drenaje sobre el suelo, lo cual a su vez permite la obtención de beneficios alimenticios, económicos y medioambientales (Torres y Zarate, 1996; Ruvalcaba et al., 2019).

Los residuos agroindustriales han recibido un reconocimiento excepcional por su alto valor productivo. Anteriormente, estos residuos se consideraban como "desechos" o "basura", y su falta de monitoreo y control hizo que no tuvieran un valor legal suficiente (Castro, 2008). Actualmente, se reconoce su potencial en aplicaciones comerciales o sociales, aunque la falta de información y leyes claras ha obstaculizado su manejo adecuado (Saval, 2012). Sin embargo, existen diferentes aplicaciones que se les puede dar a estos residuos, destacando la lignocelulosa como uno de los principales componentes y una fuente importante para la secreción de enzimas con interés biotecnológico (Ayala et al., 2011; Chandrasekaran et al., 2013; Galanakis, 2012; Saval, 2012; Wang et al., 2011).

Es importante mencionar que el estiércol generado durante la producción porcina contiene fracciones no digeridas de alimentos y otros componentes internos; estas fracciones no digeridas incluyen tejidos lignificados y epidermis incrustadas de cutina, así como lignina, celulosa, lignocelulosa y hemicelulosa, junto con aminoácidos y polipéptidos no digeridos (Coppenet, 1974).

A lo largo del tiempo, se han puesto a prueba métodos que permiten la descomposición de los desechos y su posterior uso (Agrocalidad, 2012); estos métodos incluyen a macro y

microorganismos, procesos industriales, lombricultura, líquidos, fertilización, digestión anaerobia, pantanos artificiales o el compostaje (Matthews y Lindner, 1996; AGROCALIDAD, 2012). El compostaje es una alternativa efectiva para degradar los residuos de cerdos (cerdaza) a partir de la descomposición biológica de los elementos tanto orgánicos como inorgánicos contenidos en este residuo, tales como: la lignina, celulosa, cutina, glúcidos, aminoácidos, minerales, metales, etc. (Guzmán, 2013), ya que es un proceso de manejo de residuos sólidos orgánicos que permite la estabilización biológica de los nutrientes y la posible obtención de un biofertilizante orgánico o mejorador del suelo (Larney et al., 2006).

Los organismos y microorganismos también juegan un papel importante en la degradación de los desechos porcinos, como los hongos que producen enzimas biodegradativas. Los microorganismos como las bacterias y los hongos cumplen funciones ecológicas relevantes, debido a ello, el ser humano ha logrado obtener beneficios en las industrias farmacéuticas, agrícolas y alimenticias, incluso juegan una función relevante en el proceso de degradación de la cerdaza (Zhang et al., 2014). Particularmente, los hongos, son un grupo megadiverso que se encuentran en todos los lugares del planeta y son capaces de degradar diferentes compuestos orgánicos e inorgánicos gracias a su actividad enzimática celulolítica y ligninolítica (Heredia, 2008), pues toman como fuente de energía a elementos como la celulosa y la lignina (Grata, 2020).

Aunado a ello, los hongos microscópicos representan un interés humano, ya que además de ser una herramienta en la degradación de materia orgánica también participan en la pasivación de metales pesados, en la reducción de la biodisponibilidad y daño por contaminantes como el plomo, cobre y zinc (Cai et al., 2007; Zeng et al., 2007; Zhang et al., 2014). En este sentido, los hongos microscópicos son organismos de gran importancia y utilidad en la conservación y preservación del medio ambiente.

Para poder conocer si un organismo lleva a cabo una actividad enzimática de interés es necesario medirla cualitativa como cuantitativamente, es por ello que en este trabajo se evalúa la actividad enzimática celulolítica y ligninolítica en diferentes cepas de hongos aislados del suelo y del biosólido “cerdaza”, una vez aislada la especie o consorcio de hongos, se puso a prueba la degradación de la cerdaza producida en las Granjas Carroll de México a través de un proceso de compostaje y el inóculo de los hongos seleccionados, para saber si la composta obtenida puede fungir como un biofertilizante o mejorador de suelo.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Residuos agroindustriales

En el Plan Nacional para la Gestión Integral de Residuos 2016-2021, los residuos generados a partir de los procesos agroindustriales recibieron un reconocimiento excepcional, ya que se aceptó su alto valor productivo. Anteriormente, estos residuos se consideraban como "desechos" o "basura", y la falta de monitoreo y control hizo que estos residuos no tuvieran un valor legal suficiente (Castro, 2008). Actualmente, los residuos agroindustriales se definen como componentes derivados de material primario transformado o industrializado, en forma líquida o sólida, que pueden tener valor comercial o social. Sin embargo, la falta de información y la ausencia de leyes claras han obstaculizado el manejo adecuado de estos residuos desde su disposición inicial hasta la final (Saval, 2012).

Existen diferentes aplicaciones que se les puede dar a los residuos agroindustriales, tales como: pre-tratamiento, extracción y recuperación de compuestos bioactivos e ingredientes alimenticios, como la obtención de pigmentos, pectinas, vitaminas, etc.; producción de enzimas, antibióticos, biocombustibles, hongos comestibles, etc.; producción de alimento para los animales o el uso en la generación de composta (Ayala-Zavala *et al.*, 2011; Chandrasekaran *et al.*, 2013; Galanakis, 2012).

La lignocelulosa es uno de los componentes principales de estos residuos (paja de trigo y maíz, rastrojo de maíz, piña, plátano y caña, madera), la cual está formada por los polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina (Wang *et al.*, 2011). La lignocelulosa resulta atractiva tanto ambiental como económicamente, ya que al ser el principal componente en los residuos agroindustriales, representa una fuente importante para la secreción de enzimas con interés biotecnológico, tales como: celulasas, hemicelulasas, xilanasas y pectinasas (Saval, 2012).

2.2 Composición de la cerdaza

Coppenet (1974) establece que las deyecciones sólidas del ganado contienen fracciones no digeridas de alimentos y otros componentes internos, como jugos gástricos, células epiteliales, microorganismos y productos de su actividad. Las fracciones no digeridas de alimentos están compuestas por tejidos lignificados y epidermis incrustadas de cutina si el animal consume gramíneas. Las deyecciones sólidas también contienen glúcidos como

lignina, celulosa, lignocelulosa y hemicelulosa, junto con aminoácidos y polipéptidos no digeridos. Aunque el estiércol tiene una composición cualitativa similar, su composición cuantitativa es muy variable y depende del tipo de animal, la edad, el tipo de alimentación y el manejo del animal.

Se sabe que, además, pueden existir metales contaminantes en lodos residuales porcinos como por ejemplo: zinc (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), cadmio (Cd), plomo (Pb), mercurio (Hg) y cromo (Cr). Estos metales tienen un potencial de acumulación preocupante sobre los tejidos humanos (Matthews y Lindner, 1996). Incluso, sí existen altas concentraciones de estos contaminantes y de bacterias fecales se vuelven peligrosos (Oropeza, 2006). Es por ello por lo que previamente se analiza la calidad de los lodos, así como es posible que se necesite que los desechos se sometan a procesos de estabilización y ello asegure su uso como fertilizantes.

2.3 Métodos de descomposición y tratamiento de desechos porcinos

Existen diversos métodos o alternativas de manejo en desechos de purines, entre las que se encuentran los manejos secos y los líquidos; en los secos, se encuentran el compostaje y la lombricultura; el primero se realiza a partir de los microorganismos que se encuentran en los desechos y la adición de residuos orgánicos (viruta, cáscara de trigo, cáscara de arroz, paja y otros materiales similares), ello permite la formación de abono orgánico o compost, este proceso se hace a partir de la colecta del estiércol, posteriormente, se coloca sobre el suelo impermeabilizado para evitar que los lixiviados se incorporen a este. Este proceso se realiza en dos etapas: fertilización y maduración. La lombricultura, en cambio, consiste en la crianza de lombrices en donde dos aspectos importantes a considerar son la humedad y el cuidado de los cajones para evitar la entrada de otros organismos, el proceso consiste en la degradación de materia y su posterior producción de humus. Por otro lado, algunos de los tratamientos líquidos son: fertilización, digestión anaerobia, pantano artificial, lagunas en serie, lodos activados y filtro percolador (Agrocalidad, 2012). Y dependiendo el manejo que se quiera realizar sobre los desechos porcinos, el manejo y técnicas serán diversas, para su utilización como abono.

Además, el uso de organismos o microorganismos también se considera un tratamiento de gran importancia para la degradación de desechos porcinos, tema de mayor interés en este trabajo, debido a que en el planeta existen múltiples especies de organismos y microorganismos que se encargan de descomponer a la materia orgánica, tales como:

bacterias y hongos (Matthews y Lindner, 1996). Tal es el caso de los hongos ectomicorrícicos, estos hongos realizan procesos de degradación a partir de las enzimas que producen (Phillips *et al.*, 2014) o los hongos micorrícicos arbusculares, estos hongos sí bien, no descomponen la materia, son de suma importancia ya que al absorber nutrientes del suelo dejan disponibles otros nutrientes que les sirven a los organismos descomponedores (Paterson *et al.*, 2016; Bunn *et al.*, 2019).

Los hongos actinomicetos son los productores de enzimas biodegradativas, algunos ejemplos de estos son los hongos *Aspergillus* y *Penicillium*, encargados de la biotransformación de la materia orgánica. Se conocen ciertas especies de hongos que se encargan de degradar materia como el estiércol, por ejemplo: *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Cladosporium*, *P. implicatum*, *P. expansum*, *Rhizopus stolonifer*; entre otros (Escobar *et al.*, 2012).

Un estudio llevado a cabo por Adengunloye y col. (2007) analizaron la actividad microbiana en el compostaje utilizando estiércol de vaca como inóculo. Según los resultados del estudio, la especie de hongo *Aspergillus niger* fue la más prevalente durante el proceso, seguida de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus rapens*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor mucedo*, *Fusarium*, *Aspergillus fumigatus* y *Varicosporium* spp.

En relación al uso del estiércol como alternativa nutricional en invernaderos, Salazar y col. (2004) sugieren que se utilicen mezclas de especies de hongos como Mucorales, Discomycetes y Basidiomycetes, que pueden coexistir en un ambiente rico en carbono como el estiércol.

Los hongos microscópicos cumplen múltiples funciones ecosistémicas, incluso se han registrado diversas acciones de interés humano en las que se encuentran involucrados tales como: contribuir a la pasivación de metales pesados, provocando a su vez la formación de humus (Zhang *et al.*, 2014), reducen la biodisponibilidad y el daño por plomo (Pb) (Zeng *et al.*, 2007), cobre (Cu) y zinc (Zn) (Cai *et al.*, 2007) (contaminantes presentes en los lodos residuales (González, 2017)), ello se debe a la gran afinidad por el Cd y el Hg, pudiendo remover hasta 70 mg/l de Cd y 75 mg/l de Hg (Morales *et al.*, 2010) además, participan en procesos de mineralización y descomposición de materiales lignocelulósicos en compost, disminuyen el pH, tienen un efecto positivo sobre la descomposición de materia orgánica y aumentan su calidad (Zhang *et al.*, 2018) asimismo, existen hongos que permiten la biorremediación de suelos, ya que produce diferentes enzimas, ejemplo de ellos son las

enzimas ligninoperoxidasas, las cuales pueden degradar compuestos recalcitrantes, como los contaminantes (Singh y Chen, 2008). Se sabe también que los hongos pueden usarse para remover metales en el agua, oxidar compuestos orgánicos tóxicos a metabolitos no tóxicos y/o CO₂ (Mejía *et al.*, 2004).

Es importante destacar que la diversidad biológica es esencial para el buen funcionamiento de los ecosistemas. Por esta razón, es recomendable utilizar mezclas a partir de sustratos simples para asegurar resultados óptimos y una mayor eficiencia en la utilización de residuos orgánicos (Escobar *et al.*, 2012).

Además, es relevante mencionar el concepto de consorcios, que consiste en la asociación entre diferentes microorganismos, como bacterias y hongos, para descomponer materia orgánica de manera más eficiente. Los consorcios se han utilizado en la agricultura sostenible, ya que son capaces de regular procesos biogeoquímicos, mantener la fertilidad y salud de los suelos (Golueke, 1977; Castrillón *et al.*, 2006; Calbrix, *et al.*, 2007). A lo largo de los años, se ha profundizado en el conocimiento de los consorcios, y se ha demostrado su importancia en la hidrólisis de la biomasa durante la digestión anaeróbica (Lin *et al.*, 2019). Es posible aislar estas asociaciones de su entorno natural, y aprovechar la sinergia que se produce al trabajar en conjunto para obtener mejores resultados.

2.4 Reino Fungi

El Reino Fungi contempla un sinnúmero de especies tanto conocidas como desconocidas, en el cual, más del 60% de estas son microscópicas. Lo que determina si es o no un microorganismo microscópico es el tamaño de los esporóforos o estructuras reproductivas, si estas estructuras son menores a 1 mm entonces se está ante la presencia de un hongo microscópico (Heredia, 2008). Este reino se compone por diferentes phyla, siendo el Ascomycota, el phylum que contiene la mayor cantidad de microorganismos microscópicos diversos. Existen dos tipos de fases somáticas o talos en estos organismos, los unicelulares o levaduriformes y los multicelulares o filamentosos; los primeros se reproducen por gemación y se caracterizan por tener una forma ovalada o esférica, por su parte, los filamentosos o mayormente conocidos como mohos, son el tipo de hongo más común en los hongos microscópicos y presentan ciertos filamentos aéreos, a ello se debe su nombre (Estrada y Ramírez, 2019).

Se ha registrado que los hongos filamentosos participan en el proceso de compostaje, ya que debido a su capacidad degradativa obtenida por las enzimas que liberan pueden descomponer la materia orgánica, de hecho estos hongos se encuentran de forma natural en la microbiota del suelo y no siempre son encargados de degradar materia orgánica sino que pueden ser fuente de enfermedades de flora o fauna, aquí radica la importancia de caracterizar los microorganismos que sean utilizados en la industria. Los microorganismos ocupan entre el 2-20% de la microbiota presente en un compostaje, estos se encuentran distribuidos en las diferentes etapas, temperaturas, niveles de pH, entre otros (Laich, 2011).

La importancia de la actividad enzimática de hongos, que se les ha considerado como descomponedores, radica en diferentes niveles: ecológico, económico e industrial, debido a que el proceso de las diferentes enzimas que se activan al estar en algún sustrato que permita su desarrollo cumplen una función importante en el ciclo del carbono, por lo tanto, ello permite la obtención de beneficios biotecnológicos y obtener a su vez, beneficios económicos (Fernández *et al.*, 2006).

2.4.1 Género fúngico *Sarocladium* spp.

El género *Sarocladium* pertenece al phylum Ascomycota, orden Hypocreales, familia Sarocladiaceae. Este género comprende 34 especies identificadas hasta el momento (Schoch *et al.*, 2020), se caracterizan por tener fiálides alargadas de paredes delgadas, cilíndricas y ligeramente ahusadas, se estrechan desde una anchura basal de 1,2-2,5 μm y se elevan solitarias sobre hifas vegetativas o sobre conidióforos escasamente o repetidamente ramificados. Además, presentan una producción abundante de adelofiálides y conidios alargadas (Giraldo *et al.*, 2015), con extremos redondeados, elipsoidales a cilíndricos cortos, hialinos, sin septos y pueden acumularse en la pseudocabeza, algunas especies pueden contener clamidosporas gruesas, lisas o ligeramente rugosas, globosas a elipsoidales, solitarias (Summerbell, 2011). Las especies contenidas en este género son de crecimiento lento y por lo general, presentan un color crema, rosa claro o salmón, algunas especies producen un color grisáceo en la parte posterior (Cruz *et al.*, 2017).

Se sabe que algunas de las especies de este género pueden causar enfermedades sobre ciertas especies vegetales, tales como arroz y maíz, en las cuales hay disminución en la germinación y un retraso en el crecimiento del cultivo, también se ha observado que algunas especies son micoparásitas (Giraldo *et al.*, 2015) y especies como *S. kiliense* y *S. strictum* son de interés

clínico, ya que pueden provocar queratitis, endoftalmitis, peritonitis, endocarditis y fungemias (Cruz *et al*, 2017).

Sarocladium es un género de hongos filamentosos que se ha encontrado en ambientes de compostaje, y se ha demostrado que su presencia es beneficiosa para la transformación de residuos orgánicos en compost. Este género de hongos es capaz de producir enzimas extracelulares que permiten la degradación de materiales lignocelulósicos, lo que contribuye significativamente a la mineralización de la materia orgánica presente en el compost (Li *et al.*, 2019).

Además, se ha demostrado que la presencia de *Sarocladium* durante el proceso de compostaje aumenta la actividad microbiana y acelera la degradación de los residuos orgánicos, lo que se traduce en una disminución en el tiempo necesario para obtener un compost de calidad (Park *et al.*, 2019).

2.4.2 Género fúngico *Fusarium* spp.

El género *Fusarium* es caracterizado por ser un hongo filamentoso oportunista y fitopatógeno, debido a la presencia de doce especies de interés médico que pueden afectar a pacientes inmunocomprometidos y a las especies que tienen una alta incidencia en la reducción del rendimiento a cultivos y daño a algunas especies de vegetales (Olivares *et al.*, 2005). Algunas de sus características morfológicas más relevantes son las fiálides simples o ramificadas, finas en forma de botella, pueden tener un tamaño corto a largo, las esporas que liberan son expulsadas de uno o varios poros de la fiálide, el tipo de esporas más común son las clamidosporas con doble pared lisa o rugosa. Las especies de este género pueden presentar diferentes tipos de conidios, tales como microconidios, macroconidios o mesoconidios. Los macroconidios son hialinos y con la presencia de septos; los microconidios pueden presentarse agrupados y con formas diferentes y los mesoconidios son similares a los macroconidios, pero con un tamaño menor (Tapia y Amaro, 2014).

Fusarium es un género de hongos filamentosos que se encuentran en el suelo y en materiales vegetales en descomposición. Algunas especies de *Fusarium* tienen la capacidad de producir enzimas celulolíticas y ligninolíticas durante su crecimiento en sustratos que contienen celulosa y lignina. En cuanto a la actividad enzimática celulolítica, estudios han demostrado que *Fusarium oxysporum* es capaz de producir celulasas y β -glucosidasas que pueden degradar la celulosa presente en materiales lignocelulósicos como la paja de arroz y la paja de

trigo (Li *et al.*, 2018). Además, *Fusarium solani* ha sido reportado como productor de endoglucanasas y exoglucanasas que pueden degradar la celulosa presente en materiales como la pulpa de madera (Iqbal *et al.*, 2018).

En cuanto a la actividad enzimática ligninolítica, *Fusarium solani* ha demostrado ser capaz de producir lacasas y peroxidasas que pueden oxidar y degradar la lignina presente en materiales lignocelulósicos (Singh *et al.*, 2017). Además, se ha demostrado que otras especies de *Fusarium* como *F. oxysporum* y *F. verticillioides* también son capaces de producir peroxidasas y lacasas (Kumar *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2015).

2.4.3 Género fúngico *Streptomyces* spp.

Este grupo de microorganismos bacterianos tuvo su aparición desde hace 400 millones de años, es caracterizado por su gran abundancia en el suelo y por tener un desarrollo de micelio similar a un hongo filamentoso. Esas bacterias juegan un rol ecológico importante ya que participan en el reciclaje de materia orgánica de paredes celulares de hongos, plantas e insectos, por lo que son responsables del proceso de compostaje y la obtención de partículas formadoras de suelo. Las especies de este género han sido usadas en la producción de antibióticos, en veterinaria y en la agricultura, dentro del sector agrícola su uso se debe principalmente por la producción de fitohormonas, las cuales estimulan el crecimiento de las plantas. Actualmente el mayor interés de estudio se debe a la composición de agentes bioactivos en su organismo, los cuales pueden contribuir en el control a la resistencia de antibióticos además, algunas de las especies contenidas en este género tienen la capacidad de antagonizar el crecimiento de especies fitopatógenas como bacterias, hongos e insectos (Chater, 2016).

2.5 Actividad enzimática

Las enzimas son proteínas que se encuentran en la naturaleza y han sido utilizadas en la industria farmacéutica y alimentaria debido a su capacidad catalizadora. Trabajan en condiciones de acción moderada y ayudan a reducir la producción de residuos y el gasto energético además, han sido utilizadas en pretratamientos de residuos, extracción de compuestos, producción de moléculas nuevas (Puri *et al.*, 2012) y en la industria (Martínez-Anaya, 2008).

2.5.1 Evaluación de la actividad enzimática celulolítica de hongos microscópico

La celulosa es una parte fundamental de la biomasa lignocelulósica, un polímero encontrado frecuentemente en la naturaleza, constituido por fibras de celulosa y cientos de grupos D-glucosa, los cuales se encuentran unidos por enlaces glucosídicos. Su unidad básica es la celobiosa, esta está compuesta por dos regiones: amorfa y cristalina, algunas irregularidades como microfibrillas retorcidas, microporos o espacios vacíos (Grata, 2020).

La descomposición de celulosa se obtiene a partir de la hidrólisis de β -1,4 glucósido a través de diferentes enzimas, este proceso puede ser realizado por microorganismos como las bacterias y los hongos, aunque cada especie lo hace de forma particular, por ejemplo, en los hongos se da por la generación de micelio a partir de la formación de poros en la lignocelulosa, exponiendo a la celulosa, la cual será reemplazada por diferentes enzimas, ya que las cadenas requieren romperse. Hasta ahora, algunos de los géneros de hongos que tienen gran capacidad para degradar la celulosa son: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Trichoderma* y *Fusarium* (Grata, 2020).

Las enzimas celulolíticas están agrupadas de acuerdo con su estructura, actividad enzimática, especificidad y centros activos. Se conocen las endoglucanasas, exoglucanasas y las β -glucosidasas; las primeras acortan las cadenas de celulosa y las segundas descompone los componentes de la celulosa, es decir, a la celobiosa (Grata, 2020).

El grado de actividad celulolítica depende de factores físicoquímicos o de inhibidores e inductores, un componente que induce la actividad de la celulosa es la carboximetilcelulosa (CMC), heno, salvado u orujo. Para hacer la determinación de actividad enzimática existen métodos que permiten la observación cualitativa, conocidos como métodos de cultivo (CMC o CMC-Na) o los métodos cuantitativos, los cuales se hacen a partir del sobrenadante y la medición de los azúcares reductores que determinan la actividad a partir de espectrofotometría (Grata, 2020).

2.5.2 Evaluación de la actividad enzimática ligninolítica de hongos microscópicos

La lignina es un material recalcitrante y componente estructural polifenólico no carbohidrato que se encuentra en la pared celular de todas las especies vegetales (Widiastuti *et al.*, 2008) está asociado a la celulosa y hemicelulosa, es el segundo polímero más abundante; se compone de enlaces carbono-carbono y éter (Sharma *et al.*, 2017). Las enzimas que degradan

a este componente son: lacasa, manganeso peroxidasa (MnP), y lignino peroxidasa (LiP), la primera es un polifenol oxidasa que cataliza la reducción de oxígeno de cuatro electrones a agua, compuesta de cobre, esta enzima representa una fuente importante de degradación de lignina en la naturaleza y en la industria, de hecho, tiene una gran importancia económica (Valdés, 2018), se ha encontrado en organismos como plantas, insectos, procariotas y, por supuesto, en hongos.

Por otro lado, la MnP contiene Fe, el cual oxida el fenol a radicales fenoxi, pertenece a la familia de las oxidoreductasas y tiene la capacidad de oxidar Mn^{2+} en Mn^{3+} (Zhou *et al.*, 2013) y atacar componentes fenólicos de la lignina, siempre y cuando se encuentren en un medio de secreción de metales por hongos (Zhang *et al.*, 2006). La LiP oxida compuestos aromáticos no fenólicos, que permiten fragmentar polímeros (Hammel *et al.*, 1985).

Las actividades de estas enzimas permiten la degradación de la lignina (Widiastuti *et al.*, 2008). Se ha observado que la degradación de este material a partir de hongos se da durante el metabolismo secundario, en ambientes con poca cantidad de N y C (Xiaoyan *et al.*, 2007).

Los hongos que tienen la capacidad de degradar lignina pertenecen en su mayoría al grupo de los basidiomicetos (Ruiz *et al.*, 2014). Las enzimas que modifican la lignina catalizan reacciones oxidativas (Winqvist *et al.*, 2008), no hidrolíticas (Shah y Nerud, 2002). El sistema multienzimático involucrado en la degradación y mineralización de lignina tiene comienzo con lacasas y MnPs, posteriormente y en menor medida, son secretadas las LiP (Wesenberg *et al.*, 2003). Aunque esta afirmación es una generalización, ya que cada especie de microorganismo presenta un patrón particular a la hora de sintetizar enzimas. Para conocer este proceso se ha hecho uso de colorantes en metodologías de detección enzimática (Field *et al.*, 1993).

El uso de colorantes en la detección de secreción enzimática permite la obtención de excelentes resultados debido a que son soluciones solubles, baratas, estables y poco tóxicas (Machado *et al.*, 2005). Existe una estrecha relación entre la degradación de los colorantes azoicos que llevan a cabo diferentes especies de hongo con la producción de enzimas degradadoras de lignina, como la LiP, MnP y la lacasa (Schliephake *et al.*, 2000), ya que en presencia de Mn^{2+} enzimas como LiP y MnP, sintetizadas por diferentes especies de hongos, tienen la capacidad de decolorar los colorantes azoicos (Paszczyński *et al.*, 1991), además,

cabe mencionar que la capacidad de estas enzimas puede ser más efectiva al añadir compuestos mediadores como el alcohol veratrílico (Bumpus, 1995).

2.6 Compostaje

El compostaje es un proceso biológico, dinámico, aerobio y termófilo, dado a partir del procesamiento de la materia orgánica, la participación de microorganismos y las condiciones óptimas que permitan su desarrollo, tales como el agua, el aire, la temperatura, la humedad, el pH, los nutrientes y las condiciones fisicoquímicas (Román *et al.*, 2013). Este proceso se ha llevado a cabo desde hace décadas; en los últimos años resulta un tema de interés ya que permite la recuperación o reciclaje de los nutrientes contenidos en la materia orgánica, participa en la reducción de las emisiones de efecto invernadero al reducir el volumen de la materia, inactivar los patógenos presentes que pueden dañar al suelo y por ende al crecimiento vegetal y además, es un proceso que permite que el humano obtenga grandes beneficios (López, 2010; Sundberg, 2005).

La palabra compostaje proviene del vocablo *componere* haciendo referencia a la acción de “juntar”, pues a partir de este se obtiene gran cantidad de humus dado por la fermentación que llevan a cabo diferentes microorganismos (bacterias, hongos, protozoos, miriápodos) sobre la materia orgánica. El producto del compostaje, denominado “composta” es utilizado como mejorador de suelo o fertilizante, ya que ayuda en la recuperación del suelo, reduciendo la erosión y permitiendo el transporte de nutrientes y agua para el desarrollo vegetal. (López, 2010), además, uno de los beneficios de la composta es la reducción de peso, volumen o sustancias tóxicas sobre el sustrato en un menor tiempo (López, 2010).

La materia orgánica usada para llevar a cabo un proceso de compostaje son: lodos de aguas residuales, residuos sólidos municipales, residuos de jardinería, cultivos, estiércol de ganado, entre otros (López, 2010). El compostaje incluye diferentes etapas que deben cumplirse para que la composta sea de calidad, pues de lo contrario surgen una serie de consecuencias, tales como: fitotoxicidad, bloqueo biológico de nitrógeno (N), reducción del oxígeno radicular, exceso de amonio y nitratos (Román *et al.*, 2013).

III. HIPÓTESIS

Debido a que se sabe que la gestión inadecuada de los desechos de producción porcina en México son responsables de una gran parte de la contaminación del medio ambiente y la disminución de la calidad del suelo y del aire, es necesario que se busque un manejo y tratamiento adecuado. Estos residuos pueden ser una fuente valiosa de nutrientes y utilizarse como biofertilizantes después de darles un tratamiento adecuado. Una alternativa de manejo de desechos orgánicos es el uso de microorganismos, como bacterias u hongos, ya que gracias a la secreción de enzimas que realizan se permite la degradación y a su vez, la recuperación de moléculas de la materia orgánica, que sirven como nutrientes. Por lo que se espera que, someter a la cerdaza a un proceso de compostaje y la inoculación de dos cepas de hongos o bacterias con capacidad celulolítica y ligninolítica sobre el sustrato, sea una alternativa efectiva para degradar los residuos de cerdos, hacer biodisponibles los nutrientes recuperados y obtener un biofertilizante orgánico o mejorador del suelo que minimice los daños ambientales y permita la obtención de beneficios alimenticios, económicos y medioambientales.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

- Identificar y evaluar la participación de hongos y bacterias en la descomposición de la cerdaza.

4.2 Objetivos Particulares

- Aislar y purificar a las bacterias y hongos aerobios presentes en la cerdaza.
- Identificar morfológicamente a las bacterias y hongos con actividad degradativa presentes en la cerdaza.
- Determinar cualitativa y semi-cuantitativamente la actividad enzimática ligninolítica y celulolítica de los aislados obtenidos con halos de actividad enzimática.
- Caracterizar la morfología molecular y ubicar taxonómicamente los aislados con mayor capacidad degradativa de los polímeros (lignina y celulosa).
- Evaluar el efecto descomponedor de los aislados mediante un proceso de compostaje con cerdaza.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomó una pequeña muestra de cerdaza del suelo y se mantuvo en refrigeración (4°C) y para ser procesada en el Laboratorio de Ecología Molecular Microbiana del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas-ICUAP de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Se realizaron diluciones seriadas en base 10 y se sembraron en agar papa dextrosa (APD). Así mismo se tomaron porciones pequeñas (menores a 1 cm) para ser colocadas también en medio APD. Se incubaron a temperatura ambiente, sin luz y se monitoreó su crecimiento después de 48 y 72 h. Las colonias que presentaron diferencias macroscópicas fueron seleccionadas, cada colonia fue aislada por estría cruzada y se evaluaron sus características macroscópicas y microscópicas.

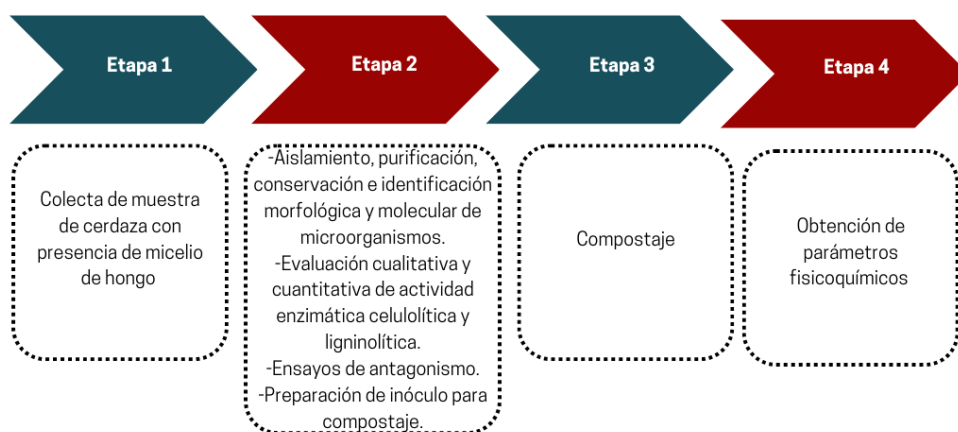


Fig. 1. Diagrama resumen de metodología.

5.1 Aislamiento de los microorganismos

Para poder aislar las diferentes morfologías se siguió la metodología de Sethi y colaboradores (2013), con algunas modificaciones. Se tomó una muestra de micelio de la morfología de interés para aislar y se inoculó en medio líquido LB sin sal, durante cinco días. Las morfologías (E, D y F) que no se aislaron a partir de este método se purificaron con ayuda de Tween al 0.01%, siguiendo la metodología de Nouri y colaboradores (2015).

La purificación de los aislamientos se obtuvo después de cinco meses, ya que se encontraron cepas asociadas estrechamente, lo cual impedía su aislamiento. Se lograron aislar diez diferentes morfologías de hongos filamentosos y cuatro morfologías de actinobacterias utilizando medio APD.

A continuación, se procedió a inocular las diferentes cepas de hongos en medios, con el fin de encontrar un método que permitiera su conservación: inoculación en APD inclinado, en medio líquido APD y en agar-agua-sustrato, para verificar su capacidad de crecer únicamente obteniendo sus nutrientes a partir de este sustrato.

Posteriormente, se corroboró la pureza de los aislados mediante preparaciones y observación bajo el microscopio óptico. Una vez que se corroboró que fueran cultivos axénicos, se procedió a su preservación.

5.2 Preservación de los aislamientos

Se optó por utilizar cuatro técnicas de conservación de los aislados filamentosos obtenidos. Para la preservación de los microorganismos filamentosos en glicerol se realizó mediante la inoculación previa en caldo APD, incubados en aerobiosis a 25°C durante 48 horas. Posteriormente, el caldo celular obtenido se cosechó en tubos eppendorf de 1.5 mL, conteniendo 1.0 mL de caldo LB con glicerol al 30%. Finalmente, los tubos se colocaron en un congelador a -20°C (Ángel, 2006). Por otra parte, para conservar las cepas en aceite mineral, se siguió la metodología de Ángel (2006), la cual consiste en cubrir las cepas que previamente se inocularon e incubaron durante una semana en viales con medio APD, con una capa de aceite mineral. Por otro lado, la conservación sobre sustrato se realizó siguiendo la metodología de Jong y Birmingham (2001), la cual consiste en esterilizar y secar la cerdaza, que se usa como sustrato, y colocarla en tubos eppendorf. Luego, se inoculó la cepa sobre los tubos eppendorf con la cerdaza esterilizada y seca. Finalmente, la conservación en agua destilada se realizó después de dos semanas de crecimiento de los hongos en tubos de agar inclinado, se añadieron 10 mL de agua destilada a cada tubo. Luego, se tomó una suspensión de 8 mL de los hongos y se colocó en tubos eppendorf. Por último, los tubos eppendorf se almacenaron a 4°C (Ángel, 2006).

5.3 Identificación morfológica de los aislados

Se llevó a cabo un registro fotográfico de distintas morfologías de los aislados, a nivel macro (vista anterior y posterior) y microscópico, a partir de la observación en microscopio estereoscópico y microscopio óptico a 40X y 100X, se observó la presencia de tres géneros: *Fusarium*, *Streptomyces* y *Sarocladium*, por lo que, se realizaron medios específicos con el fin de corroborar que los aislados realmente pertenecieran a estos géneros, para los representantes de *Fusarium* y *Sarocladium* se hizo la inoculación en medio APD (Cruz *et al*, 2017) y las especies de *Streptomyces* se hizo uso de NB y LB.

Para su registro y observación morfológica sobre microscopio óptico las muestras se prepararon sobre portaobjetos después de 74 h de incubación como se describe a continuación: con ayuda de pinzas estériles se tomó un trozo de cinta adhesiva, la cual se puso sobre el micelio de cada cepa para obtener las estructuras reproductivas que permitan su identificación, posteriormente se colocó sobre el portaobjetos y se añadió 2 uL de azul de lactofenol, finalmente se le colocó un cubreobjetos y se hizo la observación y registro fotográfico a 40X y 100X (con aceite de inmersión), cabe mencionar que anterior a este proceso todas las cepas se inocularon en APD como reserva para posteriores análisis.

5.4 Evaluación cualitativa y semi-cuantitativa de la actividad enzimática celulolítica

Se inoculó a los aislados fúngicos en medio líquido NB y se incubaron a 24°C durante 48 horas a 45 rpm. Una vez que crecieron, se inocularon en medio con carboximetilcelulosa (CMC) para la evaluación cualitativa y semi - cuantitativa de la actividad enzimática celulolítica, este medio se preparó con: 0.5 g/L de KH_2PO_4 , 0.275 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.88 g/L de CMC y 15/L de agar bacteriológico (Chávez *et al.*, 2020).

La inoculación de los hongos sobre el medio con CMC consistió en colocar una gota de 20 uL del hongo que se estuvo previamente incubado en medio líquido LB, todo ello en condiciones de esterilidad y por triplicado, al mismo tiempo, los hongos que fueron tomados para el ensayo se inocularon en placa de APD con el fin de tener un respaldo de cada cepa a evaluar.

La actividad enzimática celulolítica cualitativa se evaluó después de los ocho días de incubación, para ello, se añadieron 2 mL de rojo congo (1 mg/mL) durante 15 minutos, posteriormente se descartó el exceso y se añadió 2 mL de NaCl 1 M durante 15 minutos, nuevamente se descartó el exceso y se observó el halo de hidrólisis generado en cada cepa como indicador del consumo de celulosa (Teather y Wood, 1982; Pedroza *et al.*, 2007; Campuzano *et al.*, 2017).

Para la evaluación semi cuantitativa, se midió el diámetro de los halos formados de cada cepa y su repetición, y se obtuvo la media. Una vez obtenido y registrado estos valores, se procedió a utilizar la siguiente fórmula, la cual permite conocer el índice enzimático (Grata, 2020):

$$\frac{\text{Diámetro de la zona de hidrólisis}}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

5.5 Evaluación cualitativa de la actividad enzimática ligninolítica

Para evaluar la actividad enzimática ligninolítica se realizaron ensayos de coloración en diferentes medios. El primero se realizó siguiendo la metodología de Sharma y colaboradores (2017), donde se preparó medio sabouraud con naranja de metilo al 0.5%, sobre el cual se inoculó e incubó durante dos semanas a las distintas morfologías de hongos obtenidas, incluyendo al control positivo (*F. solani*) y al control negativo (*A. longissima*). La formación de un halo de coloración amarilla o una muestra de decoloración alrededor del inóculo fue indicativo de la presencia de enzimas degradadoras de lignina, ya que estas tienen la capacidad de decolorar los tintes poliméricos, como lo es el naranja de metilo.

Por otro lado, para evaluar la presencia de la enzima lacasa, una enzima encargada de degradar lignina, se preparó medio CZA con guayacol al 0.01%, de igual manera, se inocularon e incubaron durante 2 semanas a temperatura ambiente a las diferentes morfologías de los hongos, posterior a este tiempo, se evaluó la formación de un halo de decoloración rojiza café, indicando la presencia de esta enzima, con capacidad de oxidar al guayacol (Sharma *et al.*, 2017). Cabe mencionar que todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Para evaluar la presencia de la enzima peroxidasa polifenol, se preparó medio extracto de malta suplementado con ácido tánico, sobre el cual se inocularon e incubaron durante 10 días a las diferentes morfologías posteriormente, se evaluó cada caja y se tomó como actividad enzimática positiva al observar un anillo de coloración café oscuro alrededor de la colonia (Chamuris *et al.*, 2000).

Al término de la evaluación y registro de los resultados en los ensayos de actividad enzimática celulolítica y ligninolítica, se seleccionaron dos morfologías de hongos con el mayor número de positivos para su posterior inoculación en los ensayos de compostaje de la cerdaza.

5.6 Caracterización de los aislados fúngicos seleccionados para inocularse en los ensayos de compostaje

Para conocer las características sobre las cuales las especies de hongos seleccionadas para degradar la cerdaza pueden sobrevivir, se hicieron pruebas de temperatura y pH, ya que estas variables son las más importantes en el desarrollo de microorganismos. Para ello se inoculó a

las cepas en medio APD regulado a valores de pH de 5, 6, 7, 8 y 8.5, en cuanto a la temperatura, una vez inoculado el hongo en APD se colocaron en estufas a 37°C, 40°C, 45°C, 50°C y 55°C, todo ello por triplicado.

5.7 Identificación molecular de las cepas seleccionadas con mayor capacidad ligninolítica y celulolítica

5.7.1 Obtención del ADN genómico

Después de cultivar los aislados en medio APD, se procedió a fraccionar el micelio y suspenderlo en buffer de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 mM. La extracción de ADN se llevó a cabo siguiendo la metodología del kit Quick DNA™ ZYMO RESEARCH para bacterias y el kit FastDNA™ SPIN, para hongos. Finalmente, se visualizó el ADN mediante el marcaje con el intercalante GelRed cuando las muestras se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 0.8%.

5.7.2 Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR)

Para llevar a cabo la reacción en cadena de la Polimerasa del gen ribosomal 16S se utilizaron los oligonucleótidos 27F y 1492R reportados en la literatura. La secuencia del oligonucleótido 27F es: 5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3' y del oligonucleótido 1492R: 5'- TACGGYTACCTTGTTACGACTT -3'.

Las condiciones de reacción utilizadas durante la PCR se describen a continuación. En un microtubo para PCR se agregaron los siguientes reactivos: 43 uL de H_2O , 4 uL de buffer, 13 uL de $\text{Mg}^{2+}\text{Cl}_2$, 3 uL de primer 16SU23F y 3 uL del primer 16SU1392R, 3 uL de dNTPs, 1 uL de Taq polimerasa y 1 uL de DNA.

La PCR se realizó bajo el siguiente programa de amplificación: desnaturalización inicial a 94°C durante 3 minutos, seguida de 27 ciclos; para cada ciclo una desnaturalización a 94°C por 30 segundos, el alineamiento a 55°C por 45 segundos y la extensión a 72°C por 90 segundos. La reacción concluyó con una extensión final a 72°C por 10 minutos (Weisburg *et al.*, 1991).

El ADN ribosomal se compone de tres genes: una pequeña subunidad del gen 18S (SSU), un espaciador inter genético ITS-1, el gen 5.8S, otro espaciador inter genético ITS-2 y el gen de la subunidad grande 28S (LSU) (Dinkova y Sánchez, 2010).

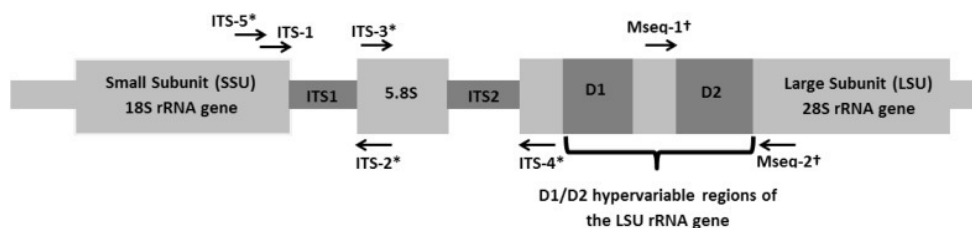


Fig. 2. Regiones del ADN ribosomal de hongos (Arbefeville *et al.*, 2017).

Para llevar a cabo la reacción en cadena de Polimerasa de la región ITS del gen ribosomal de hongos se utilizaron los oligonucleótidos ITS4 e ITS5 reportados en la literatura. La secuencia del oligonucleótido ITS4 es: 5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3' (20 mer) y la del ITS5 es: 5'- GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3' (22 mer). Por otro lado, para llevar a cabo la reacción en cadena de Polimerasa de la región D1/D2 del gen ribosomal de hongos se utilizaron los oligonucleótidos NL1 y NL4 reportados en la literatura. La secuencia del oligonucleótido NL1 es: 5' - GCA TAT CAA TAA GCG GAG AAG - 3' (24 mer) y de NL4 es: 5' - GGT CCG TGT TTC AAG G -3' (19 mer)

Las condiciones de reacción utilizadas durante la PCR para la región ITS y D1/D2 del gen ribosomal de hongos se describen a continuación. En un microtubo para PCR se agregaron los siguientes reactivos: 18.93 uL de H₂O, 2.5 uL de buffer, 0.38uL de dNTPs, 0.94 uL del primer R, 0.94 uL del primer F, 0.31 de Taq polimerasa y 1 uL de DNA.

La PCR para la región ITS se realizó bajo el siguiente programa de amplificación: desnaturalización inicial a 95°C durante 2 minutos, seguida de 35 ciclos; para cada ciclo una desnaturalización a 94°C por 15 segundos, el alineamiento a 50°C por 30 segundos y la extensión a 72°C por 1 minuto. La reacción concluyó con una extensión final a 72°C por 10 minutos. La PCR para la región D1/D2 se realizó bajo el siguiente programa de amplificación: desnaturalización inicial a 94°C durante 2 minutos, seguida de 40 ciclos; para cada ciclo una desnaturalización a 94°C por 30 segundos, el alineamiento a 50°C por 30 segundos y la extensión a 72°C por 90 segundos. La reacción concluyó con una extensión final a 72°C por 10 minutos (Weisburg *et al.*, 1991).

5.7.3 Electroforesis

La amplificación de PCR se observó mediante electroforesis a través de un gel agarosa al 0.8% para el gen 16S y 2% para el gen 18S, el buffer de corrida 1%, un marcador de peso molecular de 100 bp y un control negativo. El tamaño del fragmento amplificado fue de 532

pb de la región ITS y 591 pb de la región D1/D2. Los fragmentos migraron a 100V en buffer TAE 1X durante 40 minutos. Una vez corridos los geles fueron teñidos con Bromuro de Etidio (BrEt) y visualizados en un transiluminador.

5.7.4 Purificación de Productos de PCR

El producto amplificado fue tomado del gel de agarosa y purificado con el Zymoclean™ Gel DNA Recovery Kit.

5.7.5 Cuantificación

Una vez completado el proceso anterior, se revisó la concentración y calidad en el nanodrop IMPLEMEN™ y finalmente, la muestra fue enviada a la empresa Macrogen Inc, en Corea del Sur (<https://dna.macrogen.com>) para su secuenciación.

5.7.6 Análisis de secuencias genéticas obtenidas y construcción de árboles filogenéticos

Se compararon y se seleccionaron las secuencias relacionadas de las dos regiones (ITS y D1/D2) del gen ribosomal 18S mediante el programa BLASTn, que contrasta la secuencia de nucleótidos desconocida con una base de datos de secuencias de nucleótidos y muestra un listado de aquellas que presentan mayor similitud. Para ello, se utilizaron tanto las secuencias generadas por las cepas de estudio como las de las cepas tipo. Posteriormente, se llevó a cabo un alineamiento de estas secuencias usando la función ClustalW del programa BioEdit Sequence Alignment Editor version 7.2, las cadenas se cortaron manualmente cuando era necesario para facilitar el alineamiento

Para el análisis de datos y secuencias se utilizó el programa MEGA versión 11. Con este programa se obtuvo el árbol filogenético mediante el método de Maximum-Likelihood combinando las secuencias de los taxones de la región ITS y D1/D2, con un análisis bootstrap de 100 repeticiones. Se usó como grupo externo al género *Acremonium*, ya que se encuentra fuera del clado de *Sarocladium* (Liu *et al.*, 2017).

5.8 Ensayos de antagonismo

Con el objetivo de evaluar la capacidad de antagonismo de cepas aisladas del género *Sarocladium* frente a cepas del género *Fusarium*, se realizaron ensayos de antagonismo en placas Petri con medio de cultivo APD. Para ello, se llevaron a cabo dos tipos de ensayos: en el primero, se inoculó el mismo día una gota de 20 µL del hongo *Sarocladium* (DB y FM) alrededor de diferentes cepas de *Fusarium* que habían crecido previamente en medio líquido.

En el segundo ensayo, se inoculó el hongo DB y/o FM en el centro de la placa para permitir su crecimiento óptimo debido a su lento desarrollo, y posterior a las 24 horas se agregó una gota de 20 µL de las diferentes morfologías que habían crecido en medio líquido del género *Fusarium* alrededor de DB y FM. El ensayo se revisó cada 24 horas durante 7 días para evaluar el proceso.

5.9 Bioensayos de conversión de la cerdaza con un consorcio microbiano

Para este ensayo se secaron y esterilizaron 12 kilogramos de cerdaza proveniente de la empresa GCM, en Perote, Veracruz y 2 kg de suelo franco arenoso proveniente del Municipio Palmar de Bravo, este último se secó y se dejó sin esterilizar. Se usaron las mismas cantidades de suelo y cerdaza con el fin de tener dos tipos de tratamiento: estéril y no estéril. Una vez hecho este proceso, se procedió a mezclar y repartir en 12 caja de plástico (12 cm x 21 cm x 34.8 cm), 4 tratamientos con 3 repeticiones cada uno, a cada tratamiento se colocó 90% de cerdaza y 10% de suelo franco arenoso, los dos primeros tratamientos estériles (T1 y T2) y los dos siguientes sin esterilizar (T3 y T4). Se etiquetaron como E1, E2, E3, E4, E5 y E6 a los tratamientos estériles y como N1, N2, N3, N4, N5 y N6 a los no estériles. Así mismo, se tomó una muestra de 1 kg de sustrato y se llevaron al Departamento de Investigación en Ciencias Agrícolas, BUAP (DICA), para obtener los siguientes parámetros fisicoquímicos: Materia orgánica (%), Carbono (C%), Relación C/N, Conductividad eléctrica (dS/m), Nitrógeno (N%), Fósforo (P%), Potasio (K%) y Sodio (Na%). Una vez obtenida una mezcla homogénea en cada caja se midió la capacidad de campo del sustrato durante 48 hrs, con este dato se llevó a cada caja al 50% de humedad, tomando en consideración la cantidad de inóculo en medio líquido que sería colocada en los tratamientos 1 y 3, con el fin de permitir la mejor movilización de la materia orgánica hacia los microorganismos y acelerar su proceso de degradación.

Los tratamientos consisten en:

T1 (E1, E2, E3)	T2 (E4, E5, E6)	T3 (N1, N2, N3)	T4 (N4, N5, N6)
Estéril y con inóculo de <i>Sarocladium spp.</i>	Estéril y sin inóculo	No estéril y con inóculo de <i>Sarocladium spp.</i>	No estéril y sin inóculo

Tabla 1. Tratamientos del proceso de compostaje de la cerdaza.

Posteriormente, se procedió a inocular e incubar durante 24 horas a 100 rpm a las dos cepas seleccionadas del género *Sarocladium* en matraces Erlenmeyer de 250 mL en 150 mL de medio LB líquido, todo ello por triplicado. Pasadas las 24 hrs se tomaron alícuotas del hongo para su medición en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm, posteriormente se hizo uso de la plataforma Agilent Genomics: Bio Calculators para conocer la cantidad de UFC obtenidas. Finalmente, se seleccionaron los matraces que contenían el orden de magnitud cercanos a 10×10^8 UFC ($6,72 \times 10^8$ en DB y $9,16 \times 10^8$ en FM) para ser co-inoculados en las cajas de los tratamientos 1 y 3, colocando 5 mL de cada una y asegurando que quedarán esparcida por toda la caja. Una vez hecho esto, se implementó el diseño experimental con los tratamientos en el vivero “Imari Vivero Universitario”, localizado en el interior de Ciudad Universitaria de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Durante los primeros 15 días se tomaron y registraron los siguientes parámetros físico-químicos: la temperatura, el pH y la humedad de cada caja. Posteriormente, cada 7 días hasta el día 64. Para la medición del parámetro químico de pH, se tomaron 5 g de muestra de cada caja y se añadieron 10 mL de agua destilada, luego se agitaron durante 20 minutos para tomar la medición del pH con un potenciómetro (phmeterater quality tester multifunction, model EZ-9908). En cuanto a la medición de los parámetros de la temperatura y humedad relativa, se utilizó un higrómetro para suelos (Other®, Medidor de suelo 3 en 1 para jardín PH). También, se recabaron los datos de los parámetros ambientales de (humedad relativa y temperatura) en el invernadero utilizando un higrómetro digital bluetooth (Xiaomi®).

Se llevó a cabo la aireación del sustrato de cada caja cada tres días, con el fin de oxigenar el medio, pues ello permite mejorar la actividad microbiana promoviendo la degradación uniforme y manteniendo la relación CO₂-temperatura para evitar la formación de condiciones anaerobias al interior de la mezcla.

Una vez finalizado el proceso de compostaje se llevó a cabo la caracterización de la composta, a partir de la toma de 100 gramos de muestra de cada tratamiento y su repetición, todas las muestras se esparcieron en cajas petri para la toma de fotografías, posteriormente, se pasaron por un tamiz DUVESA con una malla de abertura de 1.91 mm para separar las partículas mayores a esta medida a las que también se les tomó una foto con la cámara del celular Samsung Galaxy A02.

5.10 Obtención de parámetros fisicoquímicos

Para la obtención del valor de los parámetros fisicoquímicos de la cerdaza se consideraron los siguientes: Materia orgánica (%), Carbono (C%), Relación C/N, Conductividad eléctrica (dS/m), Nitrógeno (N%), Fósforo (P%), Potasio (K%) y Sodio (Na%), obtenidos al finalizar el proceso de compostaje (64 d). La muestra compuesta (100 g) de cada tratamiento fue enviada al DICA. Una vez capturados los datos se analizaron y graficaron los datos en Excel y R studio versión 4.2.1.

Obtención de la densidad aparente:

Las propiedades físicas que usualmente se determinan en los sustratos son: el espacio poroso total, la capacidad de retención de agua y de aire, la densidad aparente y la densidad de las partículas (Pastor, 2000). Para obtener la densidad aparente en húmedo y en seco de la cerdaza de cada tratamiento después del compostaje se siguió el método del cilindro (Laboratorio química y biología ECCI, 2021) en el cual se usó una muestra de suelo de cada tratamiento, esta muestra se colocó en un tubo de pvc (4.5 cm de longitud, 3.6 cm de diámetro y 7.7 g de peso), posteriormente se pesó y se registró el peso dado. Después, cada muestra se vertió sobre un vaso de precipitado de 50 mL (se registró el peso de cada vaso) se pesó y se metió en un horno de 105° C durante 24 horas o hasta que la muestra se secó completamente. Una vez hecho esto, las muestras se colocaron en un desecador a temperatura ambiente y nuevamente se registró el peso. Los datos obtenidos se aplicaron en las siguientes fórmulas:

$$\text{Densidad aparente en húmedo} = \frac{M_a}{V_T} \quad \text{Densidad aparente en seco} = \frac{M_s}{V_T}$$

donde:

M_s = Masa del suelo seco

M_a = Masa húmeda del suelo

V_T = Volumen total

VI. RESULTADOS

6.1 Aislamiento y purificación de cepas

Al poner en práctica la identificación tradicional de microorganismos, una vez que se obtuvo el cultivo axénico, se consideraron características fenotípicas, morfológicas y biológicas de los hongos a través de criterios macro y microscópicos y se realizó la identificación macroscópica mediante la observación visual de la colonia (aspecto de la colonia, pigmentación, tamaño, forma, superficie de la colonia, textura; **Tabla 2 y 3**). Así mismo, gracias a la tinción se pudo identificar la especie a partir de la caracterización morfológica (utilizando las principales estructuras como ascas, hifas, esporas, conidios, etc.). Se obtuvieron algunas cepas de aislados fúngicos pertenecientes al género *Fusarium* y de acuerdo con su fenotipo y morfología se colocó el nombre de la presunta especie (**Tabla 2**). Además, se encontraron algunas morfologías pertenecientes a dos géneros, uno de hongos del género *Sarocladium* (DB y FM) y otro de bacterias del género *Streptomyces* (DR, E-5, EM, FA-5) (**Tabla 3**).

Tabla 2. Crecimiento del micelio de hongos filamentosos aislados de muestra de cerdaza.

Cepa	Vista anterior	Vista posterior	Vista con estereoscopio	Vista con microscopio óptico 40X (3er d de crecimiento)	Vista con microscopio óptico 100X (3er d de crecimiento)	Observaciones
A1 <i>*Fusarium oxysporum</i>						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Plana y extendida Textura: Algodonosa Aspecto: Opaco Margen: Liso entero Pigmentación: Púrpura con blanco
A2 <i>F. begoniae</i>						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Plana y extendida Textura: Algodonosa Aspecto: Opaco Margen: Liso entero Pigmentación: Amarilla
Bc2 <i>*F. Oxysporum</i>						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Plana y extendida Textura: Algodonosa Aspecto: Opaco Margen: Liso entero Pigmentación: Naranja-amarillo

BT *F. <i>redolens</i> ó F. <i>chlamydosporum</i>						Crecimiento: Filamentoso Elevación: plana y extendida Textura: Algodonosa Aspecto: Opaco Margen: Liso entero Pigmentación: Amarillenta
BT1						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Plana y extendida Textura: Aterciopelada Aspecto: Opaco Margen: Liso entero Pigmentación: Rosada con blanco
C2 F. <i>acutatum</i>						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Plana y extendida Textura: Aterciopelada Aspecto: Opaco Margen: Liso entero Pigmentación: Fucsia con amarillo
C3 *F. <i>lateritium</i> .						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Plana y extendida Textura: Algodonosa Aspecto: Opaco Margen: Liso entero Pigmentación: Rosada con blanco
C4 *F. <i>concentricum</i>						Crecimiento: Irregular Elevación: Plana y extendida Textura: Aterciopelada Aspecto: Húmedo Margen: Liso entero Pigmentación: Rosa intenso

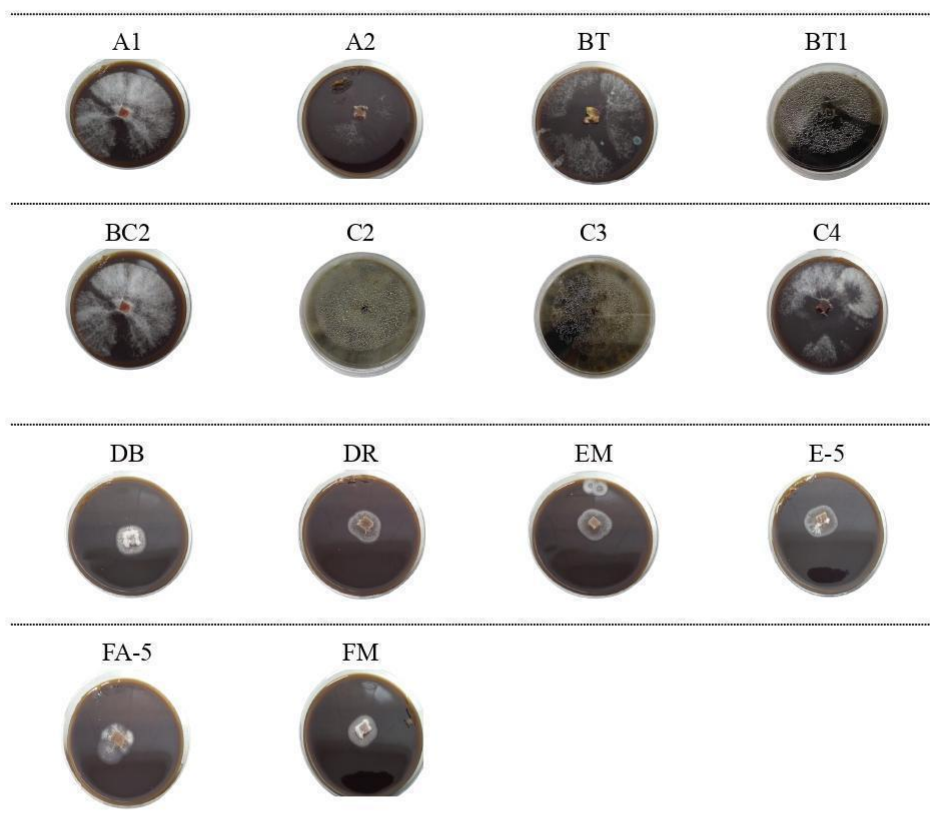
Tabla 3. Crecimiento del micelio de hongos filamentosos aislados de muestra de cerdaza.

Cepa	Vista anterior	Vista posterior	Vista con estereoscopio	Vista con microscopio óptico 40X (3er d de crecimiento)	Vista con microscopio óptico 100X (3er d de crecimiento)	Observaciones
DB						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Plana y extendida Textura: Algodonosa Aspecto: Opaco Margen: Ondulado Pigmentación: Salmón
DR						Crecimiento: Regular Elevación: Limitada Textura: Aterciopelada Aspecto: Húmedo Margen: Liso entero Pigmentación: Amarilla
E-5						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Limitada Textura: Aterciopelada Aspecto: Húmedo Margen: Ondulado Pigmentación: Amarillo-naranja

EM						Crecimiento: Irregular Elevación: Limitada Textura: Algodonosa Aspecto: Húmedo Margen: Ondulado Pigmentación: Amarillo- naranja
FA-5						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Limitada Textura: Algodonosa Aspecto: Opaco Margen: Ondulado Pigmentación: Amarillo claro
FM						Crecimiento: Filamentoso Elevación: Plana y extendida Textura: Aterciopelada Aspecto: Opaco Margen: Ondulado Pigmentación: Salmón

Se demuestra la proliferación del 100% de los aislados sobre el medio agar sustrato, el cual fue preparado a partir de muestras de cerdaza con el fin de corroborar que estas cepas sobreviven en el sustrato (**Tabla 4**).

Tabla 4. Crecimiento de los aislados fúngicos sobre el medio agar sustrato (cerdaza).



6.2 Evaluación de la actividad enzimática ligninolítica y celulolítica

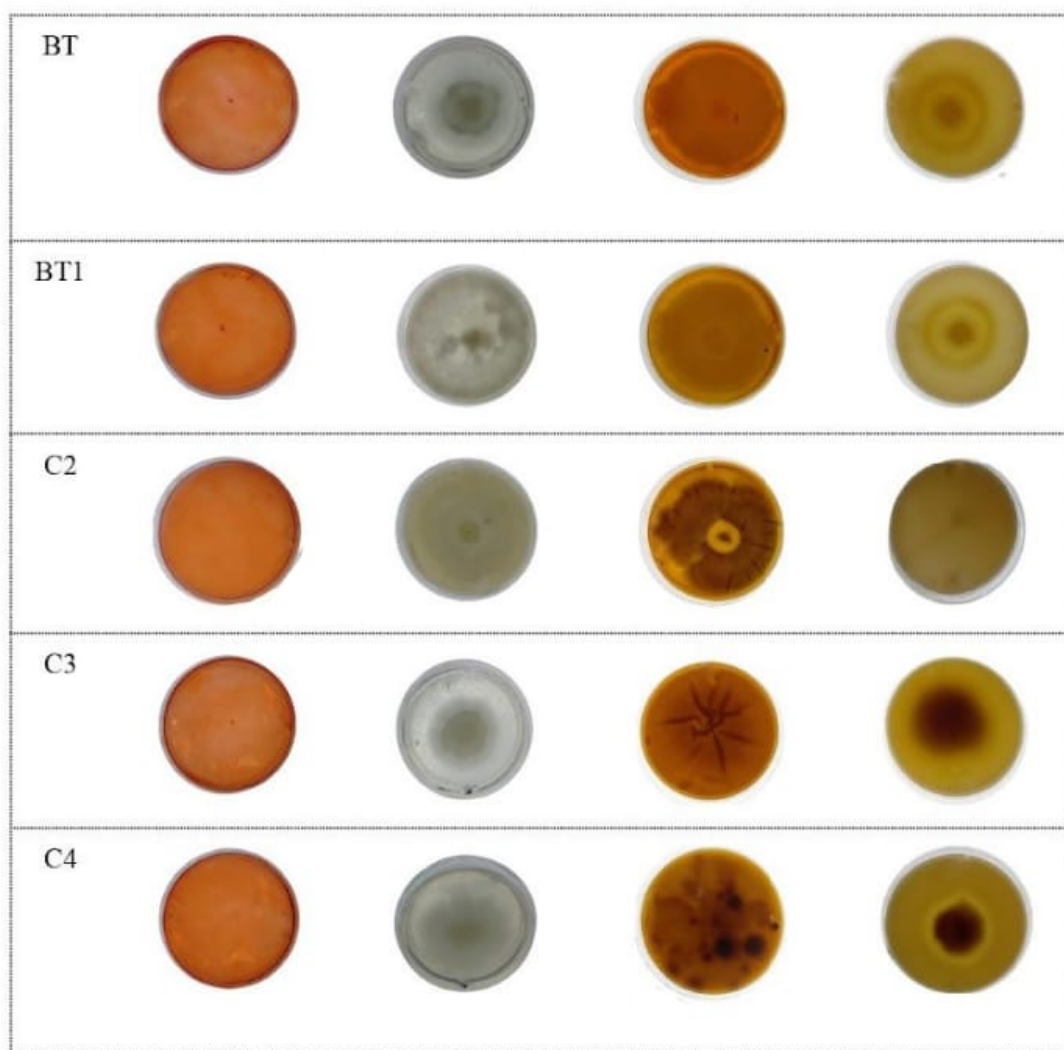
Se aprecian los resultados obtenidos de la evaluación cualitativa de la actividad enzimática ligninolítica y celulolítica de los aislados fúngicos y los controles, en los diferentes medios, los cuales, a partir de la formación de un halo de hidrólisis alrededor del micelio permiten dar a conocer si el aislado fúngico inoculado es positivo o tiene la presencia de alguna enzima encargada de degradar a alguno de estos polímeros (lignina o celulosa) (**Tablas 5 y 6**).

Los aislados fúngicos positivos presentan un halo de hidrólisis color rojo claro o amarillo (medio carboximetilcelulosa), marrón o rojo oscuro (medio guayacol y ácido tánico) y amarillo o naranja claro (naranja de metilo).

El 37.5% de las cepas que presuntamente pertenecen al género *Fusarium* sp. secretan enzimas degradadoras de lignina, en donde el 87.5% de estas cepas presentó actividad peroxidasa polifenol, pero una actividad lacasa nula. En lo que respecta a las celulasas, ninguna cepa presentó secreción.

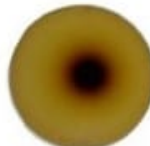
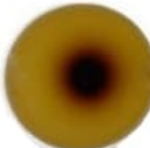
Tabla 5. Evaluación cualitativa de la actividad enzimática celulolítica y ligninolítica de los aislados fúngicos pertenecientes al género *Fusarium*.

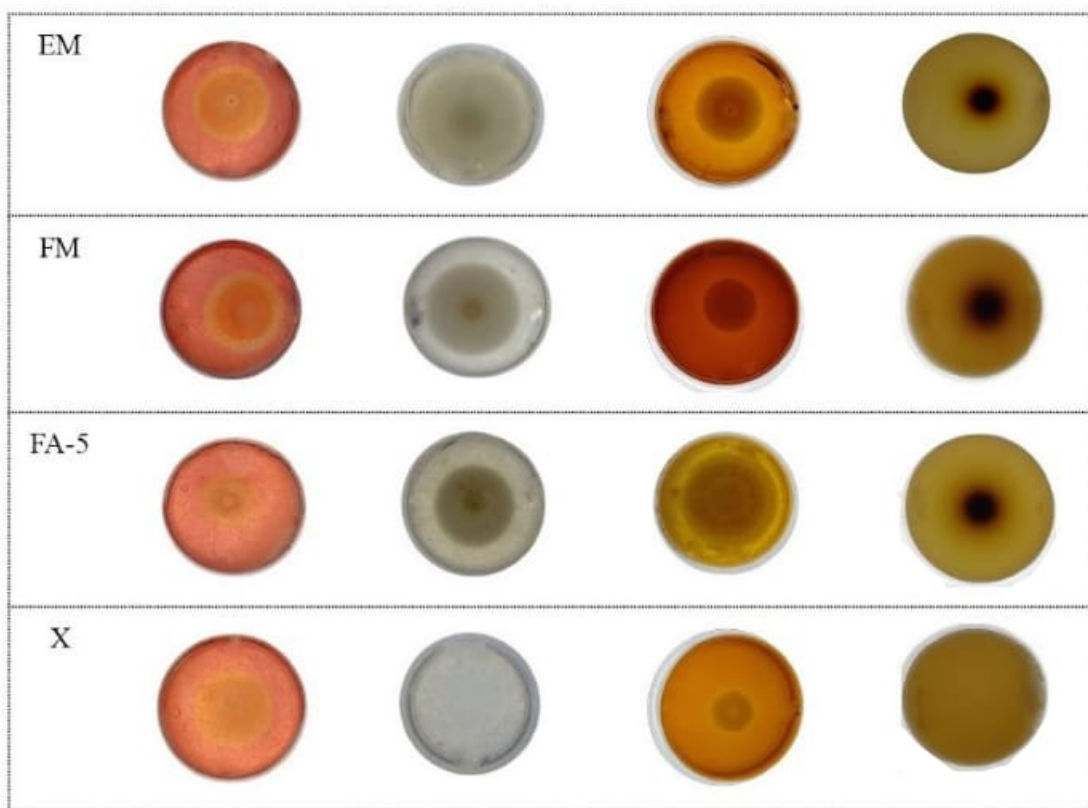
Cepa	Actividad enzimática celulolítica	Actividad enzimática ligninolítica		
	Celulasa (carboximetilcelulosa)	Lacasa (guayacol)	Enzimas degradadoras de lignina (naranja de metilo)	Peroxidasa polifenol (ácido tánico)
Control				
<i>A. longicirrus</i> (control negativo)				
<i>F. solani</i> (control positivo)				
A1				
A2				
BC2				



El 100% de las cepas pertenecientes al género *Streptomyces* demuestra que secretan enzimas degradadoras de lignina, un 80% de estas cepas presenta la enzima peroxidasa polifenol, ninguna tiene la presencia de la enzima lacasa y solo un 40% demuestra la actividad celulasa (Tabla 6).

Tabla 6. Evaluación cualitativa de la actividad enzimática celulolítica y ligninolítica de los aislados fúngicos.

Cepa	Actividad enzimática celulolítica	Actividad enzimática ligninolítica		
	Celulasa (carboximetilcelulosa)	Lacasa (guayacol)	Enzimas degradadoras de lignina (naranja de metilo)	Peroxidasa polifenol (ácido tánico)
Control				
<i>A. longissima</i> (control negativo)				
<i>F. solani</i> (control positivo)				
DR				
DB				
E-5				



Se muestra el valor del índice enzimático celulolítico y además se resumen los resultados de la evaluación cualitativa lignino y celulolítica, a partir de estos resultados se seleccionó a las dos cepas con mayor actividad enzimática usadas en el compostaje (**Tabla 7 y 8**). Como se observa, se tienen cuatro aislados con tres de cuatro positivos (**Tabla 8**); sin embargo, se eligió a la cepa DB debido a que fue la única cepa de las 15 que presentó halo de hidrólisis en el medio guayacol y a FM por tener el valor más alto en el índice de actividad enzimática celulolítica.

Tabla 7. Tabla resumen de la evaluación cualitativa de la actividad enzimática celulolítica y ligninolítica de los aislados fúngicos pertenecientes al género *Fusarium*.

Cepa	Actividad enzimática celulolítica	Actividad enzimática ligninolítica			
	Celulasa (CMC)	Enzimas degradadoras de lignina (Naranja de metilo)	Peroxidasa polifenol (Ácido tánico)	Lacasa (Guayacol)	Total de positivos
A1	-	+	+	-	2
A2	-	-	+	-	2
BT	-	-	+	-	1
BT1	-	+	+	-	2
BC2	-	-	+	-	1
C2	-	+	-	-	1
C3	-	-	+	-	1
C4	-	-	+	-	1

NC: no crecimiento.

Tabla 8. Tabla resumen de la evaluación semi-cuantitativa y cualitativa de la actividad enzimática celulolítica y ligninolítica de los aislados fúngicos.

Cepa	Actividad enzimática celulolítica	Actividad enzimática ligninolítica			
	Índice enzimático de celulasas	Enzimas degradadoras de lignina (Naranja de metilo)	Peroxidasa polifenol (Ácido tánico)	Lacasa (Guayacol)	Total de positivos
DB	-	+	+	+	3
DR	1,356665356	+	+	-	3
E-5	-	+	+	-	2
E-6	1,226973684	+	+	-	3
FA-5	-	+	+	-	2
FM	1,382604563	+	+	-	3
X	-	+	NC	NC	1

NC: no crecimiento.

6.3 Caracterización de los aislados fúngicos seleccionados para la degradación de la cerdaza

A partir de la inoculación de los aislados seleccionados en medios con diferente pH y puestos bajo diferente temperatura se registró que estos pueden crecer en un pH que va de 5-8.5 y bajo un rango de temperatura de 20- 37°C.

6.4 Identificación molecular

Identificación molecular de *Streptomyces* spp.

A continuación se observan los geles que muestran el gen ribosomal 16s (100-110 pb) de las cuatro cepas de actinobacterias aisladas:

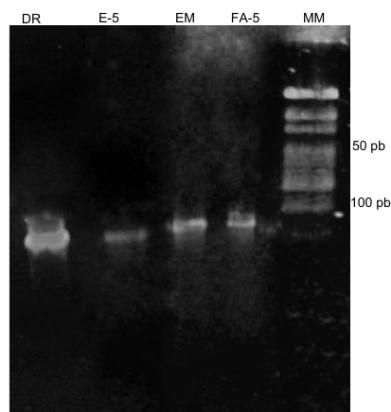


Fig. 3. Bandas de ADN de actinobacterias sobre gel de agarosa. De izquierda a derecha, el primer carril muestra la cepa DR, el segundo carril representa la cepa E-5, el tercer carril la cepa EM, el cuarto la cepa FA-5 y el último carril es el marcador molecular de 100 pb.

6.4 Identificación molecular de *Sarocladium* spp.

La concentración y pureza de las muestras de ADN que se secuenciaron fue de: ITS 1.- 59.4 ng.μL, 2.-98.3 ng.μL, NL 1.-71.9 ng.μL y 2.- 72.4 ng.μL.

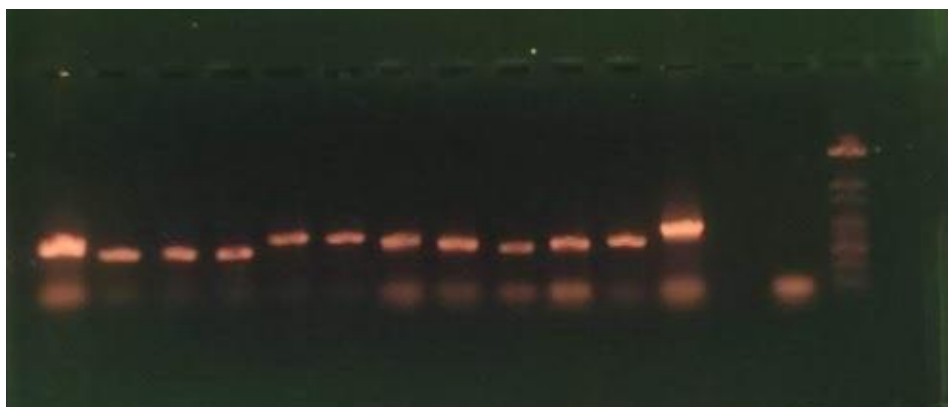


Fig. 4. Bandas de ADN de hongos sobre gel de agarosa. Las primeras tres bandas pertenecen a la cepa DB, las bandas 4-6 pertenecen a FM, las siguientes seis bandas pertenecen a *Rhizopus stolonifer*, el carril 13 es el control negativo, el carril 14 es control positivo y el carril 15 muestra el marcador molecular.

6.5 Análisis de secuencias

Las secuencias recibidas por MACROGEN (Korea) al ser procesadas en BIOEDIT (ver) y en BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, 2023), (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) se identificaron y compararon con los nucleótidos de secuencias de las especies que los resultados arrojaron.

Tabla 9. Información de las especies más relacionadas a las especies identificadas molecularmente en este trabajo.

Aislado	Oligo/marcador	ID NCBI	Porcentaje de identidad (%)	Cobertura de la secuencia (%)	Código de acceso
DB	NL1, NL4/28S	<i>Sarocladium kiliense</i>	98.14	99	MH878541.1
		<i>Lasionectria martinicensis</i>	98.14	99	MH876842.1
		<i>Dictyosporium digitatum</i>	98.14	99	MH874099.1
		<i>Sarocladium kiliense</i>	94.37	96	MN844724.1
		<i>Corallomycetella repens</i>	94.05	97	MT447490.1
		<i>Sarocladium strictum</i>	94.05	97	MK192919.1
	ITS4, ITS5/ITSs	<i>Sarocladium kiliense</i>	98.13	99	MH878541.1
		<i>Lasionectria martinicensis</i>	98.13	99	MH876842.1
		<i>Dictyosporium digitatum</i>	98.13	99	MH874099.1
		<i>Sarocladium kiliense</i>	98.83	99	MF682450.1
		<i>Sarocladium kiliense</i>	98.83	99	MT152323.1
		<i>Sarocladium kiliense</i>	98.83	99	MK752433.1
FM	ITS4, ITS5/ITSs	<i>Sarocladium kiliense</i>	98.83	99	MK752433.1

Los análisis en BLAST y el árbol filogenético obtenido demuestra que los aislados fúngicos que presentaron mayor actividad enzimática celulolítica y ligninolítica están estrechamente relacionados a *Sarocladium kiliense* y *S. zeae* en la región D1/D2 y las regiones ITS (**Fig. 5**). La región D1/D2 resultó en 591 pb y 532 pb para la región ITS.

La similitud más alta entre los dos aislados y otras especies de *Sarocladium* identificadas fue del 99%, con la cepa de *Sarocladium kiliense* HKAS 101476 (Código de acceso, GenBank MK616348.1) (**Tabla 9**). En el **Anexo 1** se encuentran las secuencias consenso obtenidas.

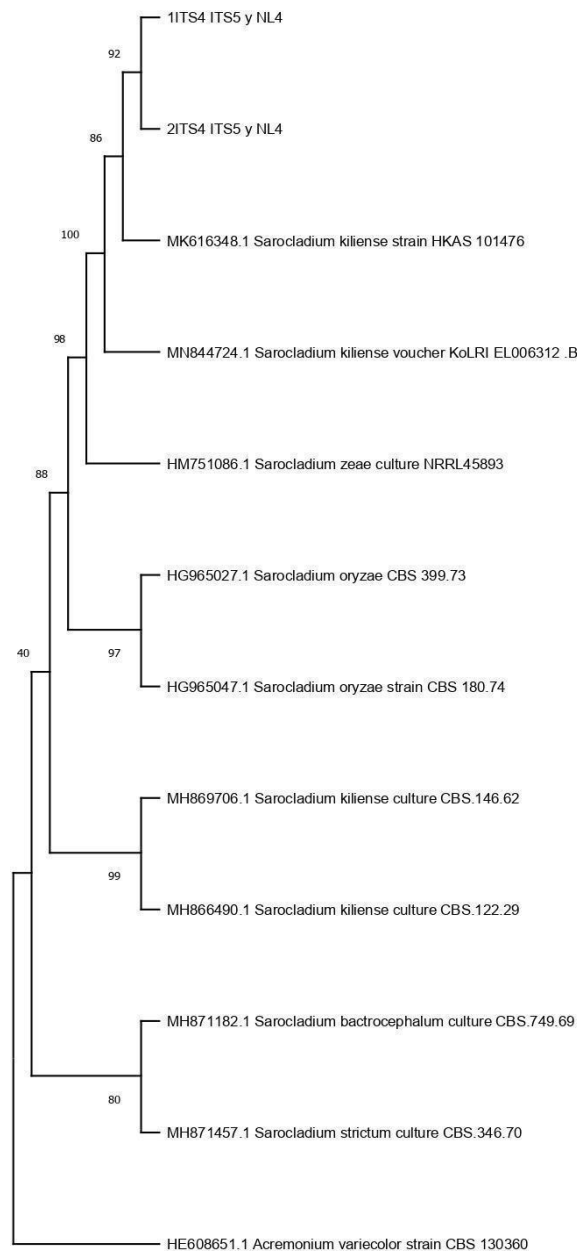


Fig. 5 Árbol de máxima verosimilitud (ML) y el modelo Tamura-Nei obtenido del ADN combinando las secuencia de dos loci (D1/D2 e ITS). En cada nodo se muestran los valores de soporte de Bootstrap por encima del 50 %. *Acremonium varicolor* se usa como grupo externo.

6.5 Ensayos de antagonismo

Se usaron a las cepas seleccionadas para el compostaje contra cinco morfologías representativas del género *Fusarium*, ya que se tiene registro que una especie de este género (*Sarocladium zeae*) participa en el biocontrol de los hongos del género *Fusarium* (Kemp *et al.*, 2020). Se observa que efectivamente las cepas pertenecientes al género *Sarocladium* resultaron ser hongos potenciales que evitan la proliferación de algunas morfologías de

hongos potencialmente fitopatógenos, la cepa FM es capaz de antagonizar el crecimiento de las morfologías C3 y C4 y DB antagoniza el crecimiento de C2, C3 y C4 (**Tabla 10**).

Tabla 10. Ensayos de antagonismo de aislados fúngicos contra aislados de morfologías pertenecientes al género *Fusarium*.

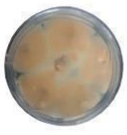
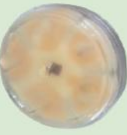
Cepa	Vista anterior	Vista posterior
FM contra A1		
FM contra A2		
FM contra C3		
FM contra C4		
DB contra A2		
DB contra C2		
DB contra C3		
DB contra C4		

Tabla 10. En color verde se encuentran las cepas que sí antagonizaron. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

6.6 Compostaje



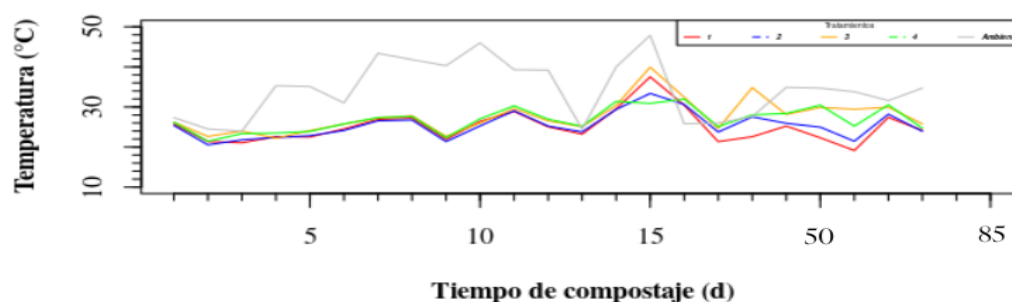
Fig 6. Muestra inicial de la cerdaza que se sometió al proceso de compostaje.

Capacidad de campo

De acuerdo con los resultados obtenidos a partir de llevar a cabo la fórmula para conocer la capacidad de campo de la muestra de cerdaza que se sometió al proceso de compostaje se sabe que 2. 150 kg de sustrato seco tienen la capacidad de retener 1. 521 kg de agua

Temperatura, pH y humedad

Los resultados de la variable temperatura, permiten observar que los tratamientos siguen un mismo patrón de cambio de temperatura durante los días de compostaje, se observa que durante las primeras dos semanas la temperatura incrementa de 25°C-40°C, principalmente en los días 3-7, posteriormente en los días 8, 11 y 12, vuelve a incrementar de 27°C-30°C. Se observa que la temperatura registrada más alta fue de 40.8°C, durante el día 14, una vez pasado este día la temperatura tiene un descenso significativo (23°C) (**Fig. 7**). Los valores de temperatura entre tratamientos no son significativamente diferentes entre sí ($p = 0,0962$).



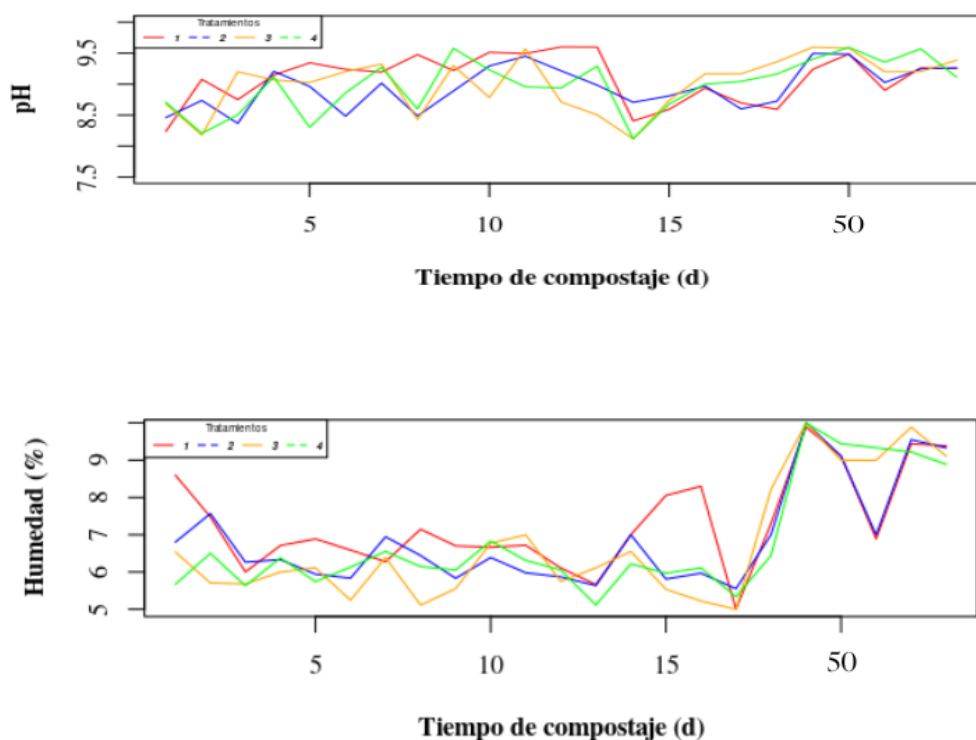


Fig. 7. Cambios en la temperatura, pH y humedad durante el proceso de compostaje en los diferentes tratamientos. T1: tratamiento 1 (estéril y con inóculo presente), T2: tratamiento 2 (estéril y sin inóculo), T3: tratamiento 3 (no estéril y con inóculo presente), T4: tratamiento 4 (no estéril y sin inóculo presente). pH ($p = 0,6324$), humedad ($p = 0,4067$) y temperatura ($p = 0,0962$).

En cuanto al valor de pH (**Fig. 7**), se observa que los tratamientos mantienen valores similares a lo largo del proceso de composteo ($p = 0,6324$), con valores alcalinos (8-10), iniciando con valores que van desde 8.2-8.7; durante los primeros 10 días hay un patrón de fluctuaciones (incremento y decremento) del pH en los cuatro tratamientos. En días posteriores, se presenta un descenso drástico hasta el día 14 (medición obtenida pH 8.1 - 8.7) y vuelve a aumentar (8.5-9.5) hasta el día 22. Por último, en el día 50 nuevamente descienden los valores y a los 7 días aumentan de nuevo (9.11-9.38).

Por otro lado, respecto al parámetro físico de humedad, se observa que durante los primeros 29 días fluctuó entre 50-80%. A partir del día 36, los valores aumentaron drásticamente (90-100%) (**Fig. 7**). No hubo diferencias significativas en este parámetro físico ($p = 0,4067$).

Finalmente, para conocer la influencia que tiene una variable abiótica sobre otra durante el proceso de compostaje se analizaron los resultados de las pruebas de correlación entre estas

variables. Se observa que la relación existente entre la temperatura y humedad es positiva, pero muy débil, ya que solo hay un impacto del 2.2 % entre ambas variables (Tabla 11; Fig. 8).

Por otro lado, en lo que respecta a la temperatura y el pH (Tabla 11; Fig. 8) indica una correlación muy débil entre las dos variables, ya que sólo el 0,1% de la variación del pH puede ser explicada por la variación de la temperatura. Finalmente, se observó que hay muy poca relación entre la humedad y el pH, ya que sólo el 14,8% de la variación del pH puede ser explicada por la variación de la humedad (Tabla 11; Fig. 8).

Tabla 11. Coeficiente de correlación y determinación de las relaciones entre variables abióticas registradas durante el proceso de compostaje.

	Temperatura - Humedad	Temperatura - pH	Humedad - pH
Coeficiente de correlación	0,14983	0,0228	0,3845
Porcentaje (%)	2,2	0,1	14,8

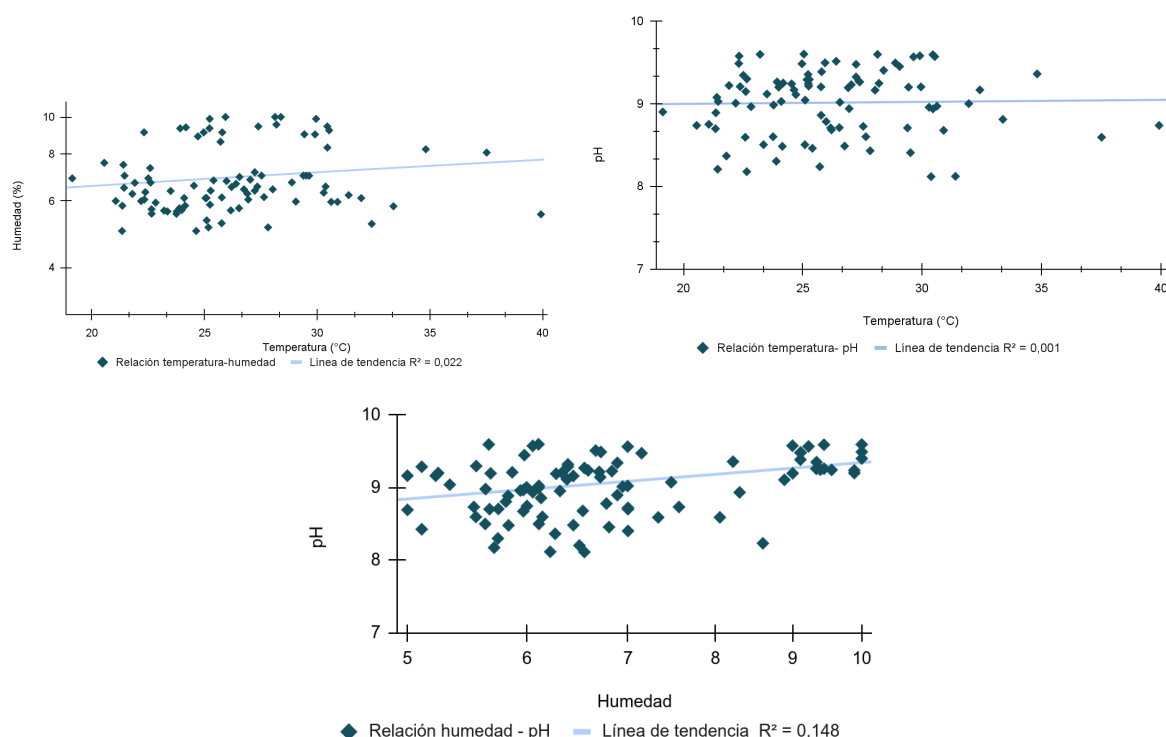


Fig. 8. Relación existente entre la A) temperatura y humedad B) temperatura y pH C) humedad y pH obtenida a lo largo de 64 días de compostaje. Las curvas representan la variación de la temperatura, la humedad y el pH durante el proceso de compostaje. Los puntos representan los valores registrados en diferentes momentos del proceso. Se presentan los coeficientes de determinación (r^2) para cada relación analizada.

Caracterización de la composta obtenida al finalizar el proceso de compostaje

A continuación se muestran tres tablas que permiten conocer a simple vista cómo se observan las partículas de la composta obtenida de cada tratamiento al finalizar el proceso de compostaje, ya que es una variable relevante en la caracterización de las compostas.

Tabla 12. Muestras de composta pasadas a través de un tamiz de 2 mm.



Tabla 12. T1: tratamiento 1 (estéril y con inóculo presente), T2: tratamiento 2 (estéril y sin inóculo), T3: tratamiento 3 (no estéril y con inóculo presente), T4: tratamiento 4 (no estéril y sin inóculo presente).

Se demuestra que existe una mayor cantidad de partículas >1.9 mm en el tratamiento 4 y 3 y una menor cantidad en el tratamiento 2 y 1 (**tabla 13**; **tabla 14**).

Tabla 13. Peso en gramos de partículas >1.9 mm de la composta, tomados a partir de una muestra de 100 gramos.

	T1		T2		T3		T4	
	E1	64,88	E4	69,56	N1	69,89	N4	68,85
	E2	58,51	E5	49,76	N2	69,96	N5	69,21
	E3	50,42	E6	48,76	N3	59,56	N6	68
Promedio (g)	57,93		56,02		66,47		68,68	

Tabla 13. T1: tratamiento 1 (estéril y con inóculo presente), T2: tratamiento 2 (estéril y sin inóculo), T3: tratamiento 3 (no estéril y con inóculo presente), T4: tratamiento 4 (no estéril y sin inóculo presente).

A continuación se observan las muestras producto del proceso de compostaje, de cada tratamiento y su repetición:

Tabla 14. Muestras de cerdaza después del proceso de compostaje.

Nombre de la muestra	Muestra sin tamizar	Muestra de composta (partículas mayores a 1.9 mm)
E1		
E2		
E3		
E4		
E5		
E6		

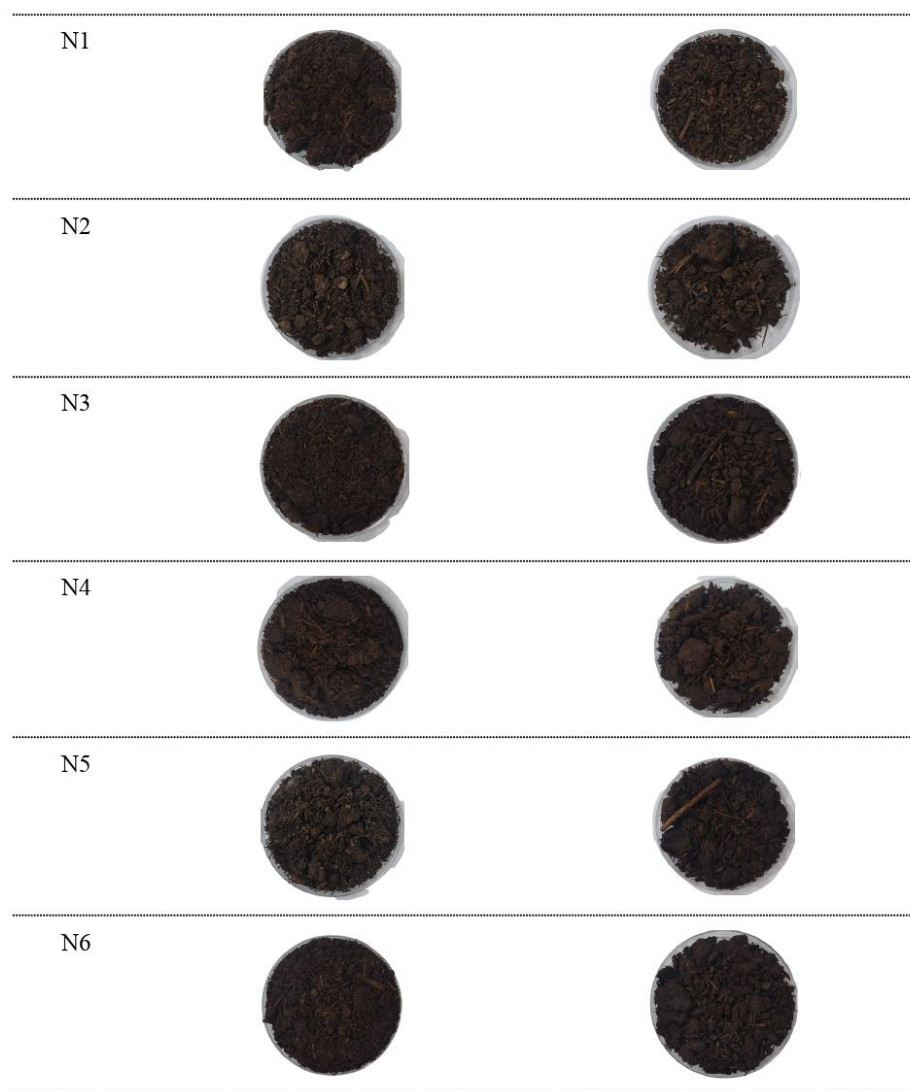


Tabla 14. E1-E3 corresponden tratamiento 1 (estéril y con inóculo presente), E4-E6 corresponden al tratamiento 2 (estéril y sin inóculo), N1-N3 corresponden al tratamiento 3 (no estéril y con inóculo presente), N4-N6 corresponden al tratamiento 4 (no estéril y sin inóculo presente).

En la **Tabla 15** se muestran dos apartados que permiten observar cómo se comportan los parámetros fisicoquímicos durante un proceso de compostaje, el primer apartado muestra los valores permitidos por la NMX-AA-180-SCFI-2018, Test Method for the Examination of Composting and Compost (TMECC) y Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME) en una composta ideal y en el segundo apartado se pueden observar los valores iniciales y finales de los parámetros fisicoquímicos registrados en este trabajo.

En la **Fig. 9** se muestra gráficamente los cambios en los valores de los parámetros fisicoquímicos evaluados (Materia orgánica (%), Carbono (C%), Relación C/N, Conductividad eléctrica (dS/m), Nitrógeno (N%), Fósforo (P%), Potasio (K%), Sodio (Na%)) en la muestra de cerdaza inicial (día 0) y a la composta, producto del compostaje (día 64).

El porcentaje de materia orgánica disminuye al final del proceso de compostaje, siendo el tratamiento 1 y 2 los que tienen una menor cantidad de materia orgánica, pues redujo un 74.44% y 73.81% y el tratamiento 3 y 4 contienen una mayor cantidad de materia orgánica, pues solo redujeron 52.61% y 46.38%, pero quien tiene una menor reducción en el contenido de materia orgánica es el control, pues solo redujo un 6% del 100% (MO = 80.18) (**Fig. 9a; Tabla 15**).

Tabla 15. Tabla comparativa de los cambios en los valores de parámetros fisicoquímicos evaluados durante el proceso de compostaje (64 días) y el valor permitido por la NMX-AA-180-SCFI-2018, TMECC (2002) y CCME (2005).

Parámetro	Valor permitido en la NMX-AA-180-S CFI-2018	Valor permitido en TMECC /CCME	Valor obtenido al inicio y al final de la composta				
			C inicio	T1 inicio	T2 inicio	T3 inicio	T4 inicio
			C final	T1 final	T2 final	T3 final	T4 final
pH	6.7 - 8.5	5.5 - 8.5		8.23	8.46	8.68	8.70
			9.95	9.50	9.66	9.94	10.10
Humedad (%)	25 - 45	35-45		86	68	65.3	56.6
				72.25	69.25	67.61	67.32
Conducti- vidad eléctrica (dS/m)	0.5 - 12	≥ 0.4	2.35				
			11.16	4.83 Tipo II	4.92 Tipo II	11.47 Tipo III	8.72 Tipo III
Materia orgánica (%)	≥ 20	≤ 40	80.18				
			76.0 Tipo I	20.50 Tipo III	21.0 Tipo III	38.00 Tipo II	43.00 Tipo II
Carbono orgánico total (%)	Mínimo 10		46.51				
			44.08	11.89	12.18	22.04	24.94
Relación C/N	15 -25	≤ 25	17.65				
			11.15	11.32	10.59	11.91	11.71
Nitrógeno (%)	1-3		2.63				
			3.95	1.05	1.15	1.85	2.13

Fósforo (%)			1.18					
			1.25	0.39	0.41	0.77	0.86	
Potasio (%)			2.46					
			2.88	0.71	0.87	1.74	2.04	
Temperatura (°C)	25 - 50			25,71	25,4	26,2	26,16	
				25.02 Tipo I o II	25.33 Tipo I o II	27.59 Tipo I o II	26.77 Tipo I o II	
Días			64					
Color	Marrón o pardo oscuro. Similar al café o chocolate oscuro		Pardo grisáceo oscuro	Pardo grisáceo oscuro	Pardo grisáceo oscuro	Pardo grisáceo oscuro	Pardo oscuro	
Olor	Agradable a tierra húmeda de bosque (monte).		No	No	No	No	No	
			Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	

Tabla 15. En rojo se señalan los valores que rebasan el límite permisible. T1: tratamiento 1 (estéril y con inóculo presente), T2: tratamiento 2 (estéril y sin inóculo), T3: tratamiento 3 (no estéril y con inóculo presente), T4: tratamiento 4 (no estéril y sin inóculo presente).

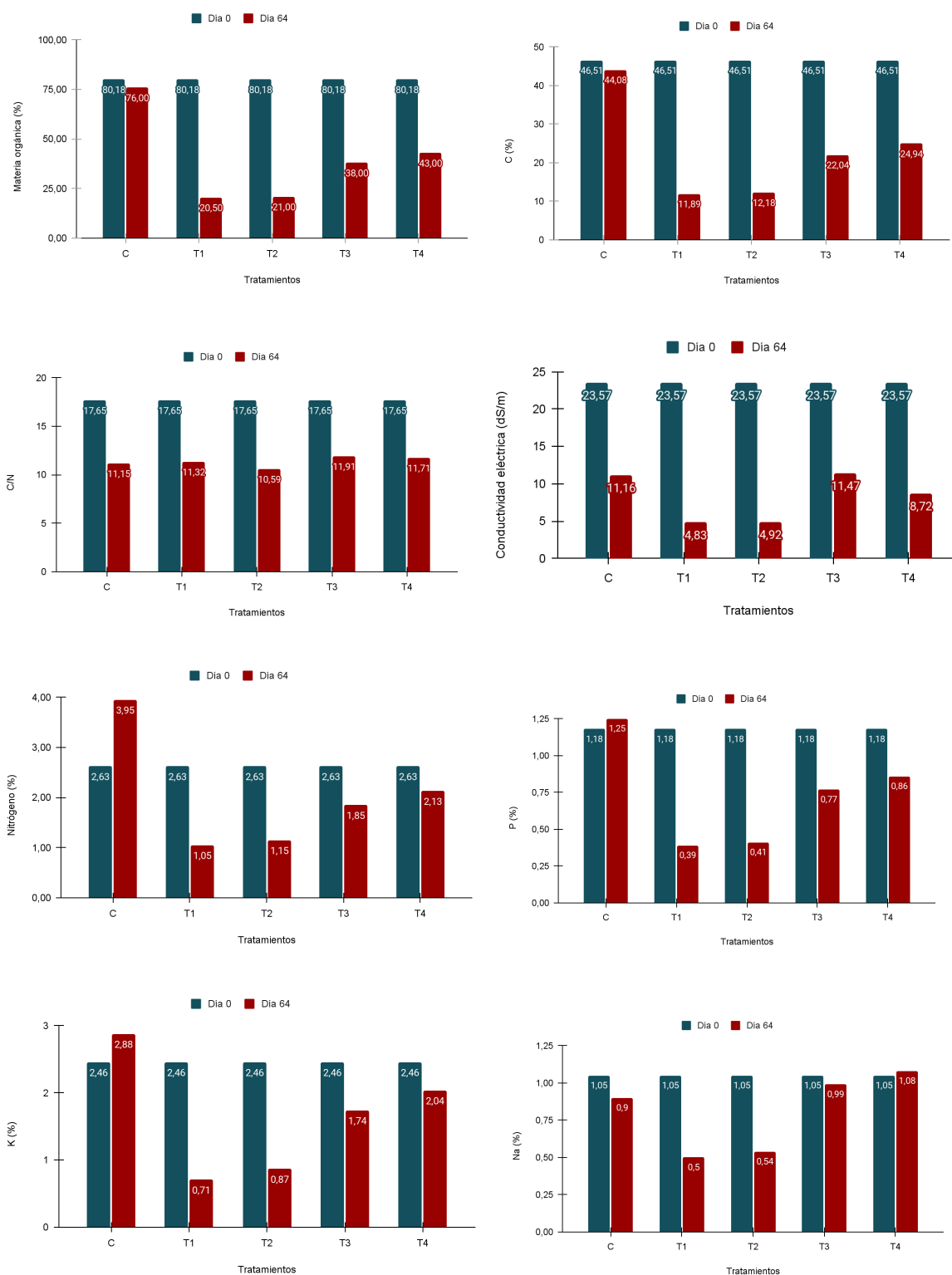


Fig. 9. Cambios en los parámetros fisicoquímicos al inicio y al final del proceso de compostaje en el C, T1, T2, T3 y T4. a) Materia orgánica (%) b) Carbono (C%) c) Relación C/N d) Conductividad eléctrica (dS/m) e) Nitrógeno (N%) f) Fósforo (P%) g) Potasio (K%) h) Sodio (Na%). C: control (cerdaza obtenida de las granjas sin ningún tratamiento durante el tiempo de compostaje), T1: tratamiento 1 (estéril y con inóculo presente), T2: tratamiento 2 (estéril y sin inóculo), T3: tratamiento 3 (no estéril y con inóculo presente), T4: tratamiento 4 (no estéril y sin inóculo presente).

Finalmente, se observan los valores de densidad aparente en húmedo y en seco (**Tabla 16**) obtenidos en cada tratamiento al finalizar el compostaje, con el fin de conocer la propiedad del sustrato que ayudará en la sobrevivencia de las plantas, pues si esta densidad es alta, como el T1, indica que el suelo se encuentra muy compacto, por ende no es un sustrato apto para el crecimiento de plantas.

Tabla 16. Densidad aparente de la composta en los cuatro tratamientos

Densidad aparente	T1	T2	T3	T4
En húmedo	0.994 g/mL	0.8470 g/mL	0.6920 g/mL	0.7291 g/mL
En seco	0.6811 g/mL	0.5567 g/mL	0.4060 g/mL	0.3995 g/mL

Tabla 16. T1: tratamiento 1 (estéril y con inóculo presente), T2: tratamiento 2 (estéril y sin inóculo), T3: tratamiento 3 (no estéril y con inóculo presente), T4: tratamiento 4 (no estéril y sin inóculo presente).

VII. DISCUSIÓN

7.1 Aislamiento y purificación de hongos microscópicos

El uso de especies de la microbiota nativa representa una herramienta biotecnológica importante en la resolución de la contaminación ambiental, por ello la importancia de continuar con estudios de esta índole (Cruz-Ramírez *et al.* 2012), ya que como se observó en las **Tablas 2 y 3** la obtención de microorganismos fúngicos a partir de una sola muestra de sustrato resultó en 15 diferentes morfologías que posiblemente juegan un rol importante en la degradación de lignina y celulosa (**Tabla 5 y 6**) y en el antagonismo de especies fitopatógenas (**Tabla 9**).

El uso de microorganismos durante el compostaje reduce el tiempo de descomposición de la materia, un proceso de composteo sin la adición de microorganismos es de aproximadamente 170 días, dependiendo del tipo materia orgánica, la aireación, humedad y población de microorganismos presentes (Zhu, 2000).

Las especies de microorganismos del suelo que se obtienen a partir de un aislamiento depende de diferentes factores externos tales como: condiciones fisicoquímicas, temperatura, humedad, oxígeno, nutrientes, condiciones del terreno y sus cuidados, presencia o ausencia de flora, entre otros factores (Fernández *et al.*, 2006). Se ha encontrado que algunos géneros de microorganismos fúngicos encontrados en la rizósfera generalmente son: *Penicillium*, *Paecilomyces* y *Aspergillus*, entre otros (Vieira y Nahas, 2005; Campuzano *et al.*, 2017).

De acuerdo a las características morfológicas observadas en la **Tabla 2** de las diferentes cepas observadas (evaluación macro y microscópica) de los hongos y comparadas con las morfologías reproductivas de las especies estudiadas (Grata, 2020; Kratka y Kovacikove, 1979; Mezzomo *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2021; Punja, 2020), se podría inferir que las cepas aisladas (As, Bs y Cs) son especies pertenecientes al género *Fusarium*, al mostrar características particulares como crecimiento filamentosos, textura algodonosa de color blanco y pigmentación en tonalidades de color morado, rosa, café-rojizo o amarillas, tal como las presentaron los aislamientos obtenidos en este estudio, pero esta identificación requiere de realizar técnicas moleculares con base a la amplificación y secuenciación de los genes ribosomales 18S y 28S, así como las regiones ITS para tener una identificación adecuada.

El encuentro de este género *Fusarium* concuerda con los microorganismos registrados en otros trabajos donde se analiza la composición de residuos de producción porcina (Deng *et al.*, 2021; Gutarowska *et al.*, 2017; Valenzuela *et al.*, 2019).

Asimismo, para la caracterización e identificación de las especies: DR, EM, E-5 y FA-5 se comparó la morfología macro y microscópica observada en otros trabajos de actinobacterias (género *Streptomyces*), en los cuales son caracterizadas por presentar un micelio color marrón a grisáceo con esporas en el centro de su desarrollo (Nguyen *et al.*, 2020) además, se comprobó que se trataba de bacterias a partir de los análisis moleculares positivos con kits para bacterias (Chao *et al.*, 2006; Chaiham *et al.*, 2020; Akshatha y Kalyani, 2022) y en lo que respecta a las cepas DB y FM se comparó su morfología con especies del género *Sarocladium* debido a su gran similitud morfológica (Cruz *et al.*, 2017; Summerbell, 2011).

De acuerdo a varios trabajos, el género *Streptomyces* se ha registrado en los residuos de producción porcina, de hecho son bacterias que comúnmente se encuentran en el suelo y diversos ambientes (Hu *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020). En cuanto al género de *Sarocladium* aún no se tienen registros de presencia en este tipo de sustrato, pero sí en estiércol de animales como vacas, aves y cerdos (Ramos *et al.*, 2020; Watanabe *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2017).

7.2 Identificación molecular de las cepas seleccionadas con mayor capacidad ligninolítica y celulolítica

Las especies DB y FM pertenecen al género *Sarocladium*, ya que de acuerdo con la morfología macro y microscópica que presentan y a los análisis moleculares que se obtuvieron a partir de la extracción de ADN se permite observar una cercana relación evolutiva con este género perteneciente al orden Hypocreales (Cruz *et al.*, 2017; Summerbell, 2011).

Para confirmar esta identificación se puede observar el árbol de máxima verosimilitud (ML) obtenido a partir de las secuencias consenso y las secuencias de especies cercanas a estas, el cual se generó a partir de un árbol consenso bootstrap inferido de 100 repeticiones, el cual representa la historia evolutiva de los doce taxones que se analizan, dentro del árbol filogenético se muestra el porcentaje de árboles de los taxones que se agruparon durante las

100 repeticiones (Felsenstein, 1985). Este análisis involucró 12 secuencias de nucleótidos. Hubo un total de 1,707 posiciones en el conjunto de datos final (Tamura et al., 2021). Y demuestra la relación filogenética estrecha de las especies aisladas en este trabajo con *S. killiense* y *S. zeae*.

7.3 Antagonismo

El género *Fusarium* es conocido por contener especies fitopatógenas, este género se encontró en más del 50% de especies en estudio (**Tabla 2**), debido al contenido de rastrojo de maíz presente en la cerdaza y a su aislamiento a partir del suelo, lo cual podría indicar que los cultivos sometidos a la cerdaza podría representar una fuente importante de pérdidas económicas en la agricultura (López, 2011). Por otro lado, se logró obtener dos aislados pertenecientes al género *Sarocladium*, el cual es caracterizado por ser una especie endófito del maíz y con la capacidad de actuar como un antifúngico, particularmente, inhibiendo el crecimiento de especies del género *Fusarium* (Araújo et al., 2017; Kemp et al., 2020).

Al realizar ensayos de antagonismo con especies de hongos microscópicos del género *Sarocladium* aisladas a partir de la muestra de cerdaza inicial, se observó que efectivamente estas tienen la capacidad de interferir en el crecimiento de hongos del género *Fusarium*, lo cual es de importancia ya que estas representan una posible herramienta de control biológico para contener la propagación de *Fusarium* spp., fitopatógeno responsable de grandes afectaciones sobre los cultivos (Kemp et al., 2020; Yang et al., 2021).

Se ha reportado que la capacidad que tienen algunas especies del género *Sarocladium* de inhibir o detener el crecimiento de especies fitopatógenas del género *Fusarium* se debe a la producción de metabolitos secundarios, los cuales alteran transmisión de señales internas en *Fusarium* que naturalmente permiten su propagación. Por lo tanto, hacen que el tiempo de proliferación de especies de *Fusarium* sea más lento y las especies de *Sarocladium* tomen lugar sobre el sustrato, tal como se muestra en los ensayos de antagonismo de la **Tabla 4**, donde las cepas C2, C3 y C4 que presuntamente fueron identificadas en base a su morfología y fenotipo como *Fusarium* spp. están siendo inhibidas por los aislados identificados como *Sarocladium* sp. Por el contrario, la cepa *Fusarium* A2 continúa con su crecimiento a pesar de que *Sarocladium* sp. esté presente, como se mencionó anteriormente, solo algunas especies del género *Fusarium* pueden ser inhibidas por *Sarocladium* (Kemp et al., 2020; Yang et al., 2021).

7.4 Actividad enzimática

Los hongos realizan procesos complejos a niveles fisicoquímicos y bioquímicos con el establecimiento y desarrollo de hifas en el sustrato que le otorgue los nutrientes necesarios para su supervivencia, el sustrato usado en este trabajo fue modificado a nivel bioquímico y físico (Kirk y Cullen, 1998) por la actividad de estos microorganismos, haciendo que el porcentaje de lignina y celulosa se redujera cualitativa como cuantitativamente (**Tabla 5 y 6**).

Diversos grupos de microorganismos tienen la capacidad de degradar elementos orgánicos compuestos por lignina y celulosa en estructuras más simples. En este estudio se observa que la mayor parte de los aislados fúngicos presentan esta propiedad.

El uso de indicadores como rojo congo, naranja de metilo, ácido tánico y guayacol permiten la visibilidad de actividad lignina como celulolítica, respectivamente, ya que se observa el cambio de coloración o la formación de halos de hidrólisis, observados en la **Tabla 5 y 6**, debido a la actividad que realizan las enzimas (celulasa, lacasa y polifenol peroxidasa) al entrar en contacto con estos colorantes (Kalmis *et al.*, 2008).

7.4.1 Actividad enzimática celulolítica

Como se muestra en la **Tabla 5**, los aislados fúngicos As, Bs y Cs (pertenecientes al género *Fusarium*) no presentaron la formación de un halo de hidrólisis como las especies Ds, Es y Fs (**Tabla 6**). Sin embargo, sí se observa un cambio de coloración de rojo a rojo-amarillento, lo cual, demuestra la afinidad que tienen las enzimas secretadas por estas especies con la carboximetilcelulosa (CMC), se infiere que estas enzimas oxidan a la única fuente de celulosa (CMC) que hay en el medio. Este resultado, concuerda con Sáenz (2009) y Campuzano y colaboradores (2017), quienes mencionan que los géneros de hongos microscópicos que tienen actividad celulolítica son: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Mucor*, siendo *Fusarium* un género encontrado en este estudio.

Se observa que existe actividad enzimática celulolítica en casi todas las cepas aisladas, particularmente las cepas Ds, Es y Fs que son las que revelan un halo de hidrólisis, indicativo de la oxidación de celulosa contenida en el medio carboximetilcelulosa. Además, en la **Tabla 8** se observa que el índice enzimático celulolítico más alto lo expresan las cepas: DR, EM y FM. Estos resultados se deben al uso de la carboximetilcelulosa como sustrato de las enzimas que degradan celulosa (B-glucosidasa, endoglucanasa, exoglucanasa), ya que esta representa

una fuente de carbono que permite el desarrollo del hongo. Una vez que las enzimas se encuentran presentes en el medio degradan las cadenas de B-1,4 glucósidos de las que se compone la celulosa y al añadir el rojo congo se permite visualizar la zona de hidrólisis, observada en las cepas Ds, Es y Fs; este colorante actúa ante una actividad despolimerizante, es decir, ante la desintegración de polímeros, en este caso, la celulosa (Uribe y Ortiz, 2010; Grata K., 2020).

Las especies aisladas del género *Sarocladium* demuestran tener la capacidad de degradar la cerdaza. Existe evidencia experimental que demuestra que la secreción de enzimas producidas por este género que son capaces de degradar compuestos lignocelulósicos, tales como: β -glucosidasa, endo-1,4- β -D-glucanasa, exo-1,4- β -D-glucanasa y endo-1,4- β -D-xilanasa (Tarayre *et al.*, 2015). En la **Tabla 6** y **8** se observa la formación de un halo de hidrólisis en *Sarocladium* sp. cepa FM, indicativo de que sí secretó alguna de las enzimas mencionadas anteriormente, pero no para la *Sarocladium* sp. cepa DB. En contraste, las especies del género *Fusarium* tienen menor capacidad celulolítica que DB (Jing (2010), Riyadi (2020); Majumdar y colaboradores (2014); Tarayre y colaboradores (2015)).

Dos de las cuatro aislados fúngicos obtenidos y presuntivamente identificados como pertenecientes al género *Streptomyces* (DR y EM), también demuestran una capacidad alta de secretar enzimas celulolíticas, tal como se observa en la **Tabla 6** y **8** y como lo reportan Prasad y colaboradores (2013), quienes mencionan que estos microorganismos representan una fuente importante en el reciclaje de nutrientes y en la degradación de materia orgánica debido a la producción de celulasas.

Una de las razones por las que los hongos de este estudio pudieron evidenciar la actividad enzimática celulolítica es el pH de los diferentes medios y el pH del sustrato del que fueron aislados, ya que estos se encuentra dentro del rango 4-7, valores que permiten a los hongos secretar enzimas celulolíticas, por otro lado, si el pH hubiera presentado valores menores a 4 los microorganismos se verían afectados y por lo tanto, sus actividades enzimáticas y la toma de nutrientes y ácido orgánicos disminuyen (Kavanagh, 2005).

7.4.2 Actividad enzimática ligninolítica

La lignina es un compuesto orgánico difícil de degradar debido a su estructura; la producción de enzimas ligninolíticas que participan en este proceso como la lacasa y MnP están

influenciadas por distintos factores externos, tales como: temperatura, composición de nutrientes (C y N), pH, agitación, presencia de inductores (alcohol veratrílico o etanol), compuestos similares a la lignina, entre otros (Osma *et al.*, 2010).

Existen diferentes géneros de microorganismos capaces de degradar a la lignina, entre ellos se encuentran: *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. y *Aspergillus* spp. (Mahalingam y Maruthamalai, 2014), en este estudio, se aisló al género *Fusarium* y demostró a partir de la observación de los halos de hidrólisis generados en los diferentes medios que algunas especies pertenecientes a este género llevan a cabo actividades enzimáticas ligninolíticas (**Tabla 5; Tabla 7**).

En lo que respecta al género *Streptomyces*, se sabe que algunas especies pertenecientes a este tienen la capacidad de secretar enzimas ligninolíticas a partir de inocularse en medio ricos de lignina y mostrar un halo de hidrólisis, como los que se observan en la **Tabla 6**. Se ha demostrado que al inicio de la inoculación se forma una zona clara alrededor de la colonia debido a la despolimerización que lleva a cabo la enzima fenoloxidasa, lacasa o quinona oxidoreductasa al estar presente de un medio rico en lignina (Sivakumar *et al.*, 2004).

Por otro lado, hasta el momento se sabe que una especie del género *Sarocladium* (*S. kiliense*) puede degradar a componentes similares o que se encuentran unidos a la lignina debido a la secreción de las enzimas β -xylosidasa y endo-1,4- β -D-xylanasa, las cuales participan en la degradación del xilano, una hemicelulosa unida a las cadenas de lignina (Tarayre *et al.*, 2015).

7.4.2.1 Lacasa y Lignino Peroxidasa

Enzimas como la lacasa y lignino peroxidasa (LiP) tienen la capacidad de decolorar al naranja de metilo, ya que este pigmento está compuesto principalmente de ácido 4-aminobencenosulfónico, componente que los hongos pueden degradar y convertir en CO₂ (Stolz, 2001). Lo anterior, permite inferir que todas las especies de microorganismos aisladas en este estudio secretan ambas enzimas, ya que como se observa en las **Tablas 5 - 8**, apartado Enzimas degradadoras de lignina (naranja de metilo), se forman halos de hidrólisis alrededor del crecimiento de los organismos.

7.4.2.2 Lacasa

La enzima lacasa o peroxidasa tiene la capacidad de oxidar a varios compuestos orgánicos, el ácido tánico se ha usado como uno de los indicadores de la producción de esta enzima (Niku *et al.*, 1988; Mahalingam y Maruthamalai, 2014), al formarse un halo color café alrededor de la colonia, como los que se observan en las **Tablas 5 y 6**, apartado Peroxidasa polifenol (ácido tánico), el cual permite observar el nivel de producción o secreción de la enzima que generan las especies A1, A2, BC2, BT, BT1, C3, C4, DB, DR, EM, E-5, FM y FA-5 para degradar el sustrato.

Para que exista la síntesis de la enzima lacasa se requiere de fuentes altas de nitrógeno (Eggert *et al.*, 1996; Rodríguez y Hansen, 2007). Según Eggert (1996), la actividad de lacasa en *P. chrysosporium* fue solo detectable bajo un alto contenido de nitrógeno (0.673 g de N por litro). Posiblemente a ello se deba la falta de observación de esta enzima en las placas de medio guayacol con las diferentes cepas aisladas, ya que la única fuente de nitrógeno contenida en este medio se encuentra en 0.491 g de N por litro.

7.5 Compostaje

Durante las últimas décadas se han realizado varios intentos por encontrar una forma económica y sustentable de mejorar la productividad del suelo, ya que el uso de fertilizantes químicos tiene costos elevados y trae consigo consecuencias ambientales dañinas (Radke *et al.*, 1988), particularmente sobre el suelo, ya que muchos de estos componentes generan acidificación y degradación de las propiedades físicas (Ogbodo, 2013). Lo anteriormente expuesto justifica la relevancia de este y otros estudios, ya que a partir de los resultados se proponen alternativas de manejo para minimizar el problema, una de estas alternativas es el uso de estiércol como abono, este desecho puede provenir de granjas de producción animal, granjas que han ido en aumento durante los últimos años (Radke *et al.*, 1988; Ahn *et al.*, 2011).

Actualmente el tratamiento de desechos sólidos orgánicos, como lo es la cerdaza, se ha realizado a partir de la descomposición aeróbica o el compostaje, ya que permite la degradación y el reciclaje de componentes orgánicos, promueve el proceso de humificación a partir de la actividad de microorganismos presentes que generan enzimas extracelulares. Estas enzimas se caracterizan por degradar los polímeros (componentes de la materia

orgánica) y se obtiene composta como producto final, la cual juega un rol importante en la mejora de la estructura del suelo y la retención de agua (Jurado *et al.*, 2014; Wei *et al.*, 2016).

En las **Tabla 12, 13 y 14**, se puede observar que el proceso de compostaje a partir de la cerdaza estéril presenta menor peso de partículas mayores a 1.9 mm, que los tratamientos no estériles, lo cual permite establecer que estos tratamientos son una alternativa que ayuda en la formación de humus o sustrato útil para fungir como tierra arable debido a la degradación más eficaz de los componentes de cerdaza que los tratamientos que no fueron esterilizados. Incluso, se puede observar que los inóculos de hongos en realidad no son un factor relevante en el peso del tamaño de partícula >1.9 mm de la composta, ya que los valores en gramos del tratamiento 1 y 2 y el 3 y 4 son muy similares. Aun así, sería recomendable que a estas partículas >1.9 mm se les sometiera a un proceso adicional de compostaje adicionando más UFC de *Sarocladium* spp. ya que, se sabe que las partículas mayores a 2 mm son ricas en elementos orgánicos (López *et al.*, 2002).

Los elementos orgánicos presentes en las partículas de composta también se deben a la presencia de rastrojo de maíz. Se sabe que la adición de materia orgánica como el rastrojo de maíz, las virutas de madera o el aserrín durante el compostaje incrementa la calidad del humus que se obtiene (Kebibeche *et al.*, 2019; Duan *et al.*, 2021).

Es importante mencionar que durante el proceso de compostaje los microorganismos juegan un papel importante ya que incrementan el proceso de degradación de la materia orgánica (Morales *et al.*, 2016) pues estos obtienen su energía a partir de los elementos orgánicos contenidos en la materia, como los carbohidratos (lignocelulosa o sustancias proteicas) (Duan *et al.*, 2019; Meng *et al.*, 2019). Particularmente, se ha observado que los hongos del género *Sarocladium*, microorganismos usados en este trabajo, tienen la capacidad de participar en bioprocesos, tales como la transformación de celulosa (Tarayre *et al.*, 2015). De hecho, son hongos que al ser termotolerantes se han encontrado naturalmente durante la fase termofílica de un proceso de compostaje (Li *et al.*, 2022; Tortosa *et al.*, 2020).

La composta influye en la mejora de los suelos, ya que facilita su manejo, aumenta la capacidad de retención de humedad, reduce el riesgo de erosión, ayuda en la regulación de temperatura, aporta macro y micronutrientes, mejora la capacidad de intercambio de cationes, aporta microorganismos que participan en la transformación de materia, aporta carbono,

reduce los malos olores, elimina insectos, ratas, patógenos humanos, bacterias, malezas (Román *et al.*, 2013)

Asimismo, una composta ayuda a mantener el balance fisicoquímico y microbiológico, incrementa el horizonte A o capa fértil, incrementa la fertilidad, (De Bertoldi *et al.*, 1983; Mora, 2006; Shilev *et al.*, 2007; Marosz, 2012), genera precursores de las sustancias húmicas (Zapata, 2009), reduce la concentración de pesticidas (Mora, 2006), previene la desertificación (Cellier *et al.*, 2012), entre otros.

Conocer los niveles de parámetros fisicoquímicos bajo los que se encuentra una composta permite diseñar recomendaciones de aplicación ambientales seguras y eficientes, que determinen la disponibilidad de cada parámetro para las plantas. Los cambios dados en los parámetros fisicoquímicos durante el proceso de compostaje se encuentran en la **Tabla 3** y en la **Fig. 7 y 8**. En dichas figuras se observa que al finalizar el compostaje los niveles de materia orgánica (%), Carbono (C%), relación Carbono/Nitrógeno (C/N), Nitrógeno (N%), Fósforo (P%) y Potasio (K%) disminuyeron y los niveles de pH y conductividad eléctrica (dS/m) aumentaron en los cuatro tratamientos al final del proceso de compostaje. Cada uno de estos parámetros serán abordados a continuación.

7.5.1 Temperatura

Durante el proceso de compostaje se presentaron diferentes etapas, donde la temperatura es una variable de gran relevancia, la cual presenta un patrón similar durante todo el proceso de compostaje en los cuatro tratamientos ($p = 0,0962$). Como se observa en la **Fig. 7**, la primera etapa de composta es caracterizada por el aumento de la temperatura, la segunda, llamada termófila, es la etapa de mayor incremento y la tercera es la de enfriamiento o mesotérmica, estos resultados concuerdan con Nóbrega y col., (2015) y Jurado y col., (2014) quienes han registrado este patrón de temperatura durante el compostaje de materia orgánica.

El incremento en la temperatura durante la primera etapa de compostaje se observa a causa de la degradación de la materia orgánica, la cual promovió la proliferación y crecimiento de los microorganismos observada durante las etapas posteriores (**Fig. 3**; Wang *et al.*, 2013). Hasta ahora se sabe que la temperatura es el factor que determina el incremento o decremento en la actividad microbiana (Du *et al.*, 2021). Se puede inferir que los inóculos de *Saroclodium* spp.

podieron mantener su actividad enzimática durante el compostaje, ya que estos microorganismos conservan su actividad en temperaturas menores a 50°C y la temperatura durante el proceso no superó este valor (Tarayre *et al.*, 2015).

7.5.2 pH

En lo que respecta a los valores de pH, se ha registrado que la tasa de descomposición aumenta cuando el pH se encuentra entre 6.0 y 9.0 (Molinero, 1993) y justo son los rangos en los que se encuentra durante el compostaje y el valor bajo el cual sobreviven las especies del género *Sarocladium* (Tarayre *et al.*, 2015), ya que el pH se mantuvo en valores mayores a 7.2 y menores a 9.5 (Fig. 7). El ligero aumento de pH durante este proceso indica que probablemente se deba a la descomposición de pequeñas moléculas, a la mineralización de la materia orgánica originada por la actividad de microorganismos y a la producción de amonio, el cual se forma cuando las proteínas son descompuestas (Beck-Friis *et al.*, 2003), cabe aclarar que este aumento no tuvo un efecto en las especies inoculadas. Por otro lado, si los niveles de pH fueran ácidos, la proliferación de microorganismos se vería limitada (Sundberg, 2005).

El patrón de cambio de pH va aumentando conforme pasan los días, hasta llegar al punto más alto (alrededor de 9.4) y de nuevo se reduce, pero siempre dentro del rango de pH alcalino. Cabe mencionar que estos patrones de cambios se han registrado en diferentes trabajos de compostaje. Se ha observado que durante la etapa inicial el incremento de temperatura y pH está ligado al aumento de CO₂ y en la etapa final se sabe que al agotarse los nutrientes del sustrato hay un descenso en los valores de pH, temperatura y producción de CO₂, lo que demuestra la existencia de la actividad microbiana (Sundberg, 2005).

Durante la segunda etapa de composta, los ácidos se descomponen y por ende, aumenta el pH (**Fig. 3**) (Beck-Friis *et al.*, 2003), por otro lado, durante la tercera etapa existe una gran cantidad de ácidos orgánicos como el acético y láctico, lo que provoca que el pH se reduzca, estos ácidos se forman durante la fermentación de compuestos orgánicos que llevan a cabo los microorganismos (Sundberg, 2005) y una vez que se encuentran en el sustrato orgánico los microorganismos ya no pueden seguir proliferando (Cherrington *et al.*, 1991), ya que interfieren con sus funciones celulares (Sundberg, 2005).

Es importante mencionar que a partir de los análisis fisicoquímicos realizados en las muestras de cerdaza al inicio y final del compostaje se observa que hubo un incremento en los valores de pH, de hecho se observa que estos valores rebasan los límites permisibles en la NMX-AA-180-SCFI-2018 para una composta; diferentes autores demuestran que el nivel de pH incrementa al final del compostaje, pero estos sí se encuentran dentro de los rangos permisibles para NMX-AA-180-SCFI-2018, TMECC (2002) y CCME (2005) (Duan *et al.*, 2019; Huhe *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; López *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2022; Zhu *et al.*, 2021).

7.5.3 Humedad

A lo largo de todo el proceso de compostaje fue necesario mantener la humedad entre 40 y 60%, ya que estos rangos permiten la degradación óptima de la materia orgánica y el desarrollo correcto del género *Sarocladium* (Aoyama *et al.*, 2014). Además, Murwira y col., (1990); Liang y col., (2003) demostraron que la tasa de descomposición de estiércol de ganado es mayor cuando la humedad se encuentra al 50%. Por el contrario, la tasa desciende rápidamente cuando los niveles de humedad decrementan o sobrepasan el 50%, ya que se ve limitada la actividad microbiana (Haug, 1993).

Se intuye que la tasa de descomposición de la materia orgánica descendió después del día 36 del proceso de compostaje, ya que como se observa en la Fig. 7, a partir de este día los niveles de humedad aumentaron drásticamente, sobrepasando el 60% (Jeris y Regan, 1973; Tamura y Osada, 2006; Zhu, 2006; Li *et al.*, 2008). En consecuencia, al haber un alto grado de humedad los microorganismos pierden oxígeno (O) y se disminuye el nivel de mineralización de nitrógeno (N), pues el exceso de agua reduce el espacio de aire y se inmoviliza a ambos elementos (Miller, 1993). Por el contrario, si los niveles de humedad son óptimos, como los primeros 35 días, los microorganismos pueden captar con mayor facilidad al O y aumentar su actividad, la cual contribuye a la descomposición adecuada de la materia orgánica (Kim *et al.*, 2016).

En la literatura se encuentran algunos estudios que sobrepasan los límites de humedad requeridos para una composta (Duan *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2022) y solo uno (Kumar *et al.*, 2015) está dentro del valor permitido para la NMX-AA-180-SCFI-2018. Este trabajo no es la excepción al rebasar los límites de humedad requeridos (25-45%) para una composta de calidad, por lo que, es necesario su reducción. La razón por la que la

mayoría de las compostas sobrepasen los límites de humedad requeridos quizá pueda deberse a la acumulación de esta durante todo el tiempo de compostaje por la falta de un movimiento de mayor fuerza que permita expandir la humedad en todo el sustrato.

7.5.4 Materia orgánica (%)

La materia orgánica es un conjunto de sustancias formadas a partir de la descomposición de material orgánico vegetal o animal, en la que intervienen microorganismos y se obtienen sustancias inorgánicas útiles para plantas y animales. En el proceso de compostaje, las proteínas y los azúcares complejos se descomponen en sustancias inorgánicas, iniciando la formación de carbono o humus. Para que la descomposición de la materia orgánica sea efectiva, es necesario regular la temperatura, la humedad y el aire para permitir la proliferación de los microorganismos que llevan a cabo la mineralización (Román *et al.*, 2013).

En lo que respecta al proceso de compostaje, se llevó a cabo la descomposición de materia orgánica, ya que se observa un decremento al finalizar el proceso (**Fig. 9a**) debido a la actividad metabólica de los microorganismos (Song *et al.*, 2022) inoculados de *Sarocladium* sp., de los cuales hasta ahora no se tenía registro de su capacidad de descomponer a la materia orgánica. Aunado a la descomposición, es posible que se formen sustancias húmicas estables (Shi *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2019), conllevando a una mejora en el rendimiento de los cultivos y la fertilidad de los suelos (Rawotteea *et al.*, 2017).

Como se observa en la Fig 8a, los tratamientos 1 y 3, es decir, a los que se les inoculó el consorcio microbiano, tienen una reducción mayor de materia orgánica (74.44% y 52.61%, respectivamente) que los tratamientos a los que no les hizo la inoculación de los hongos (T2: 73.81% Y T4: 46.38%); además, comparado al tratamiento control, es decir, a la muestra de cerdaza que no se le dió ningún seguimiento de pH, humedad y aireación, la reducción de materia orgánica en los tratamientos es alta gracias al proceso dado durante el compostaje, a la participación de los microorganismos presentes (T2 y T4), al consorcio inoculado de especies del género *Sarocladium* (T1 y T3) y al número de días que duró la composta (64 d), ya que en otro trabajo donde se hizo uso de una membrana semipermeable durante el compostaje en estiércol de vaca durante 42 días la materia orgánica se redujo solo un 22.36% (Song *et al.*, 2022).

El porcentaje de materia orgánica de todos los tratamientos y del control se encuentran dentro del valor permitido en un producto de compostaje (NMX-AA-180-SCFI-2018), sin embargo, el tratamiento 4 y el control rebasan el porcentaje de materia orgánica ideal (TMECC, 2002; CCME, 2005) (≤ 40 ; **Tabla 15**).

7.5.5 Carbono (%)

Al final del proceso de compostaje los valores de carbono de todos los tratamientos se encuentran dentro del valor de carbono aceptado para una composta finalizada (NMX-AA-180-SCFI-2018), estos valores son más bajos que al inicio (**Fig. 9b**), debido a que es usado como una fuente de energía para la proliferación de los microorganismos presentes (Karak *et al.*, 2014; Tortosa *et al.*, 2018; Vargas *et al.*, 2010) y a la degradación aeróbica de macromoléculas (Zhou *et al.*, 2018) a partir de las cuales se obtiene CO₂ y H₂O (Huang *et al.*, 2017).

En otros estudios, se ha observado que al inocular a un microorganismo durante el proceso de compostaje se reducen los niveles de carbono, en comparación a tratamientos en donde no se lleva a cabo la inoculación (Zhu *et al.*, 2021; Duan *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2015). Por ejemplo, en este trabajo de tesis, el nivel inicial de carbono fue de 46.51% y redujo a C: 44.08%, T1: 11.89%, T2: 12.18%, T3: 22.04%, T4: 24.94% (Fig. 9b); donde se observa que en el control sí se redujo pero solo en menos de 2%. Por otro lado, en los tratamientos sometidos al proceso de compostaje presentan una reducción de 20 - 35%. En los tratamientos 1 y 3, que son los tratamientos donde está presente *Sarocladium* spp., el porcentaje de reducción de carbono (T1: 34.62% y T3: 34.33%) es mayor que en los tratamientos 2 y 4 (T2: 24.47% y T4: 21.57%) infiriendo que se debe al uso que le dan los microorganismos a este nutriente. Es importante mencionar que la presencia del rastrojo de maíz (fuente de carbono) se ve disminuida, después de más de 60 días, en una investigación futura será importante hacer una medición intermedia (a los 30 días).

Los valores de reducción de carbono son similares a los reportados por Zhu y colaboradores (2021), a pesar de que el tiempo de compostaje fue menor (42 días), observándose una reducción del 37% de carbono en el tratamiento con inóculo y un 23.8% en el tratamiento sin inóculo. Esto se debe a la fuerte actividad metabólica de la especie de hongo inoculada, que utilizó el carbono como fuente de energía para la mineralización de la materia orgánica. Es importante mencionar que la reducción del carbono da lugar a la formación de humus,

mediante su biotransformación en sustancias moleculares más pequeñas. Por ende, se puede mencionar que la participación de *Sarocladium* spp. durante el proceso de compostaje promueve la mineralización de la materia orgánica (Li et al., 2022; Zhu et al., 2021).

7.5.6 Relación Carbono/ Nitrógeno

La relación C/N es un parámetro relevante e indispensable para el metabolismo eficaz de los microorganismos, incluyendo a *Sarocladium* spp. durante el proceso de compostaje (Ma et al., 2018; Tortosa et al., 2019). Se ha observado en varias compostas que el nivel de C/N tiende a decrecer al finalizar el compostaje (Kumar et al., 2015; Zhu et al., 2021; López et al., 2010; Huhe et al., 2017; Duan et al., 2019; Li et al., 2020; Li et al., 2019). Algunos trabajos afirman que se debe a la pérdida de dióxido de carbono, ya que cuando la materia orgánica se degrada el C va en disminución y el N aumenta, dando como resultado un descenso en la relación C/N (Rashad et al., 2010; Karak et al., 2013).

Los valores de C/N al final del compostaje se encuentran por debajo de 15 (**Tabla 15; Fig. 9c**), de acuerdo a Li y col., (2019) esto es indicativo de que la composta está madura. Antes de someter a la cerdaza al proceso de compostaje el valor de C/N era de 17.65, una vez que se finalizó la composta los valores de todos los tratamientos se encuentran entre 10.59 - 11.91 (**Fig. 9c, Tabla 15**), es decir, todos están en la fase de madurez, por ende, no se puede decir con certeza que esta especie de hongo es la que aceleró el proceso de madurez, ya que todos los tratamientos tienen valores similares.

Además, el valor inicial de C/N no se encuentra dentro del valor óptimo para iniciar un proceso de compostaje, ya que para lograr una degradación eficaz y estabilidad en el sustrato los valores deben estar entre 25 y 40 (Toumela et al., 2000).

Por otro lado, en la **Fig. 5c** y **Tabla 15** se observa que en ningún tratamiento se tiene el valor establecido en la norma NMX-AA-180-SCFI-2018, aunque, el valor inicial de C/N de la cerdaza sí se encuentra dentro de este rango. No obstante, de acuerdo con diversas fuentes bibliográficas los valores iniciales y finales de C/N sí se encuentran dentro de los parámetros (≤ 25) para una composta de calidad (CCME, 2005; TMECC, 2002), además, se sabe que los valores de C/N cercanos a 10 o que se encuentran entre 11-22 son indicativos de una buena estabilización del material (Provenzano et al., 2001; Tomati et al., 2002).

7.5.7 Conductividad eléctrica (dS/m)

El valor de conductividad eléctrica indica la concentración total de sales solubles en agua. A lo largo del proceso de compostaje se observó la reducción de sales en todos los tratamientos, observando que el menor valor se dió en el tratamiento 1, a partir de ello se puede inferir que esta reducción puede deberse a la volatilización del amoníaco dado durante el proceso de mineralización del nitrógeno y la transformación de amonio (NH_4) a nitrato (NO_3^-), que lleva a cabo el consorcio microbiano inoculado (*Sarocladium* spp.) (Tortosa *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2017). Para los tratamientos 1 y 2 (sometidos al proceso de esterilización) tienen los valores más bajos (**Fig. 9d**). Sin embargo, para los tratamientos 3 y 4 (no fueron sometidos al proceso de esterilización) también se observó un decremento en la concentración de sales, aunque en menor cantidad, quizá pueda deberse a la competencia por nitrógeno por los diferentes microorganismos presentes.

Durante el proceso de compostaje la conductividad eléctrica generalmente tiende a incrementar debido a la mineralización de materia orgánica llevada a cabo por la actividad de microorganismos (García-Gómez *et al.*, 2005), pues se da un aumento en la concentración de nutrientes o moléculas pequeñas (HCO_3^- , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ y Ca^{2+}) (Zhang y Sun, 2014). En contraste con lo anterior, cuando existe una alta humedad durante el proceso y se lleva a cabo la lixiviación, como es el caso de este trabajo de tesis (Bueno *et al.*, 2013).

Los cuatro tratamientos y el control se encuentran dentro de los valores de requerimiento de sales para un producto de compostaje (NMX-AA-180-SCFI-2018; TMECC (2002); CCME (2005); **Tabla 15**). Siendo el control y el tratamiento 3 los que tienen un mayor valor de conductividad (11.16 y 11.47 dS/m, respectivamente) y el tratamiento 1 el menor valor (4.83 dS/m). Comparado a otros trabajos (Li *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2015), donde la conductividad final de la composta no rebasa 3.5 dS/m; esta diferencia puede deberse al tiempo de proceso del compostaje al que se sometieron (32 y 35 días), aunque al igual que este trabajo, en el trabajo de Li y col. se hizo uso de un inoculante microbiano y en el trabajo de Kumar y col. de un consorcio microbiano (2 especies de hongos y una de bacteria).

Conocer la conductividad eléctrica de un sustrato para las plantas es sumamente importante, ya que de ello depende la absorción de agua para su supervivencia. Una gran cantidad de sales sobre el sustrato representa una disponibilidad de agua baja, por la gran cantidad de solutos que hacen difícil su transporte. Además, se sabe que cuando el valor de conductividad

eléctrica es alto puede deberse a la gran concentración de iones, que usualmente son tóxicos para una especie vegetal, aunque, cada especie de planta responde diferente a la concentración de sales (Croapaia, 2021).

7.5.8 Nitrógeno (%), Fósforo (%) y Potasio (%)

Los tratamientos 1, 2, 3 y 4 se clasifican como "mejorador de suelo orgánico", ya que la suma de los nutrientes N, P y K es de 2.15, 2.43, 4.36 y 5.03, respectivamente. Por su parte, el tratamiento control se clasifica como "fertilizante orgánico" debido a que la suma de los tres nutrientes es de 8.08 (NMX-AA-180-SCFI-2018).

El nitrógeno puede ser retenido por algunas especies de hongos durante el proceso de compostaje, lo cual hace que exista una menor actividad ureasa, actividad que permite el reciclaje de N (Cui *et al.*, 2019) y la hidrólisis de urea a amonio, haciendo que los compuestos que contienen nitrógeno se mineralizan (Tiquia *et al.*, 2002; Wei *et al.* 2019; Zhu *et al.*, 2021). Como se observa en este trabajo, los valores en los cuatro tratamientos fueron menores al contenido de nitrógeno en la muestra inicial del compostaje (**Tabla 15, Fig 4e**). Por lo tanto, se puede decir que el consorcio microbiano de *Sarocladium* spp. inoculado en los tratamientos 1 y 3 y los microorganismos presentes en los tratamientos no estériles y el tratamiento 2 no son capaces de fijar el N durante la composta (Yu *et al.*, 2022).

Durante un proceso de compostaje los niveles de N van en aumento continuo, además si se inocula un microorganismo en el sustrato se ha observado que el nivel de N aumenta más que sin el uso de estos (Kumar *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2021), de hecho se ha registrado que la presencia de especies de *Sarocladium* está relacionado positivamente a la concentración de N durante el compostaje. Sin embargo, en este trabajo no fue así, ya que los niveles de N en todos los tratamientos incluyendo a los que tenían el inóculo de *Sarocladium* spp. se redujo, a excepción del tratamiento control, ya que en este sí hubo un aumento (**Fig. 9e**).

Los tratamientos 1, 2, 3 y 4 se encuentran dentro del límite de N permisible para un producto de compostaje, mientras que el control sobrepasa el rango, además, los tratamientos 1 y 2 se encuentran dentro del tipo III de composta y el tratamiento 3 y 4 dentro del tipo II (NMX-AA-180-SCFI-2018; **Tabla 15**). El valor de N del tratamiento 3 (1.85%; **Fig. 5**) es el

más cercano a los requerimientos generales (1.5%) que utiliza una planta para su nutrición (Castro y Gómez, 2010).

Es importante mencionar que debido a que hubo una baja en la concentración de N, Pepe y colaboradores (2013) recomiendan hacer uso de bacterias fijadoras de nitrógeno obtenidas a partir del mismo material de compostaje como suplemento, ya que son capaces de incrementar del 16 al 26% de N. Además, existen diferentes estrategias para conservar el N durante un proceso de compostaje, tales como: precipitar el amonio con sales de estruvita pues ayudan a que la concentración final de N sea 1.4% y el amonio incrementa arriba de 1.5% (Jeong y Kim, 2001). Asimismo, se reduce la pérdida de N y reduce la salinidad (Wang *et al.*, 2016); adicionar aserrín con KH_2PO_4 para absorber el amonio (Hu *et al.*, 2007), adicionar biocarbono, ya que permite reducir la pérdida de N al absorber el amonio (Wang *et al.*, 2017); adicionar piedra médica a la composta, ello reduce las emisiones de amonio y N_2O (Wang *et al.*, 2016), adicionar enzimas oxidantes de amonio de arqueas para la formación de nitritos, pues reduce las pérdidas de N en forma de NH_3 y NO_2 (Xie *et al.*, 2012); adicionar bacterias oxidantes de amoniaco, ya que reduce la pérdida de N (Zhang *et al.*, 2016) y/o controlar las condiciones de la composta (temperatura, tamaño de partícula, pH y humedad), ello permite incrementar el N a 3.2% (Bueno *et al.*, 2008).

Por otro lado, el fósforo se encuentra en diversas partes del planeta, como en los desechos animales y los residuos de materia orgánica (Li *et al.*, 2014), que al ser reciclados representan una fuente importante de nutrientes formadores de una tierra arable (Wei *et al.*, 2015). Dentro de los desechos animales, se encuentra un 70 a 80% de P que consumen los animales y que debería reciclarse a partir del compostaje (Zhang *et al.*, 2022), sin embargo, en este trabajo el P no se encontró en gran proporción a pesar del tratamiento de compostaje que se le dió a la cerdaza.

De acuerdo a la NMX-AA-180-SCFI-2018, los cuatro tratamientos contienen niveles muy bajos de fósforo al final del proceso de compostaje y el control se encuentra dentro del rango aceptado para un producto de composta (**Tabla 15, Fig. 9f**). Aunque de acuerdo con los requerimientos generales (0.2%) que utiliza una planta para su nutrición el valor de los 4 tratamientos y el control se encuentran cercanos (Castro y Gómez, 2010).

Se ha observado que cuando se inocula a un microorganismo en un sustrato que se somete a un proceso de compostaje el porcentaje de P aumenta (Kumar *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2019; Wei *et al.*, 2018 a,b), en este trabajo el nivel de P en todos los tratamientos, a excepción del control, disminuyó, por lo tanto, se puede inferir que para que los microorganismos puedan fijar el P sobre el sustrato es necesaria la participación de un gran cantidad de microorganismos existentes en la cerdaza inicial, ya que es el tratamiento control el que tiene la cantidad necesaria de P para considerarse como una composta ideal, por el contrario, el consorcio microbiano inoculado (*Sarocladium* spp.) no tiene la capacidad de fijar el P ni en condiciones de esterilidad (T1) o no esterilidad (T3), además, se intuye que para que existe una fijación de P sobre el sustrato tampoco es necesaria la regulación de aireación o humedad, ya que a pesar de que los tratamientos 3 y 4 no fueron esterilizados, no tienen la cantidad suficiente de P (**Tabla 15; Fig. 5**).

Durante el compostaje sometido al estiércol porcino existen dos factores relevantes que influyen en la dinámica del P, la humificación y la descomposición de materia orgánica, al descomponerse las fracciones de materia orgánica se libera P, sin embargo, en las últimas décadas esta liberación ha ido en descenso, lo cual es preocupante debido a que este nutriente juega un papel muy importante en el crecimiento de las plantas y la fertilidad de los suelos (Roy, 2017).

Para aumentar la disponibilidad de P en las últimas décadas se recomienda el uso de aditivos ácidos como la pulpa de manzana, fosfoyeso, ácido fosfórico, sales de fosfato/superfosfato, ácido cítrico, azufre y la inoculación microbiana de bacterias solubilizadoras de fosfato durante los procesos de compostaje (Wei *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2021), aunque aún deben encontrarse métodos específicos para cada sustrato, pues estos ácidos afectan directamente el descenso en el pH y el aumento en la conductividad eléctrica (Wu *et al.*, 2019). Además, el porcentaje de P puede incrementar en una composta de estiércol de cerdo si se le agrega sales de cloruro de magnesio y fosfato (Lee *et al.*, 2009).

En lo que respecta al potasio (K), los tratamientos 1 y 2 contienen un porcentaje bajo de este elemento, mientras que el tratamiento control, 3 y 4 se encuentran dentro del rango aceptado para un producto de composta de calidad para la NMX-AA-180-SCFI-2018 (**tabla 15, Fig. 9g**). A lo largo del proceso de composta se redujo el porcentaje de K, en todos los tratamientos, a excepción del control; por lo regular, durante un proceso de compostaje el K

tiende a incrementar con o sin inóculo de un consorcio microbiano (Khan *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2019), debido a estos resultados se puede decir que el consorcio inoculado en este trabajo no ayuda a mantener o aumentar los niveles de K, ya que en el tratamiento control sí hubo un incremento, quizá, los microorganismos elegidos y aislados no tienen esta capacidad, pero sí otros microorganismos encontrados en la cerdaza que no proliferaron en los tratamientos por la competencia que representa el consorcio inoculado.

Es importante mencionar que el valor de K del tratamiento 3 (1.74%) es el más cercano a los requerimientos generales (1%) que utiliza una planta para su nutrición (Castro y Gómez, 2010). Actualmente se están haciendo varios intentos para que el uso de las compostas se incremente y los agroquímicos se reduzcan, ya que la composta trae consigo beneficios necesarios para el mejoramiento y recuperación de las características físicas, químicas y microbiológicas del suelo (Sánchez *et al.*, 2017) y el uso de agroquímicos al contrario, siguen provocando daños irreversibles (eutrofización, erosión del suelo, pérdida del equilibrio físicoquímico y microbiológico, contaminación del agua por escorrentía o percolación) (White y Brown, 2010), a pesar de que la composta no mejora inmediatamente el incremento de nutrientes como el P, K o N, sí asegura la mejora en la estructura del suelo y el transporte de estos nutrientes a las plantas aunque no en las cantidades necesarias para una planta (Castro y Gómez, 2010), como sí lo hacen los agroquímicos. Por ello, es necesario que estos tres macronutrientes (N, P y K) obtenidos al finalizar la composta sean suplementados con materia rica que contengan estos elementos, como se desglosó en cada apartado (Sánchez *et al.*, 2017).

Para incrementar el porcentaje de K en la composta se puede adicionar materia orgánica rica en K, como la cáscara de plátano, la cual permite llegar a valor >100 g/kg (Bhattacharyya *et al.*, 2007), sales de magnesio (Jeong y Hwang, 2005; Jeong y Kim, 2001; Lee *et al.*, 2009) o la mica de desecho, pero para esta última se necesita a un microorganismo capaz de solubilizarlo (Kalemelawa *et al.*, 2012; Nishanth y Biswas, 2008). Sin embargo, es necesario realizar investigaciones en las que se aíslen, se propaguen e inoculen microorganismos capaces de solubilizar K, P o N en una composta.

7.5.9 Sodio (Na)

El tratamiento 1 y 2 tienen una menor cantidad de sodio que el tratamiento 3, 4 y el control (**Fig. 5h**), cuando el sodio se encuentra en grandes cantidades en una composta representa un

riesgo a la hora de aplicarlo en el suelo ya que puede provocar sodicidad (Ansorena *et al.*, 2014), a pesar de que los cultivos anuales no se ven tan afectados por el porcentaje alto de Na, el suelo sí es afectado, ya que se vuelve salino; se sabe que el contenido de sodio ideal en una composta debe ser <1% en una base seca, por lo que, siguiendo esta normativa, todos los tratamientos se encuentran dentro del porcentaje óptimo (NCh2880, 2003). Además, al parecer el inóculo no se ve afectado por esta cantidad de Na, ya que si hubiera gran concentración se inhibiría la propagación del micelio de *Sarocladium* spp. (Panda y Mishra, 2019).

7.5.10 Densidad aparente

López (2010) menciona que la densidad aparente es una de las propiedades físicas del sustrato que se ven favorecidas al finalizar un proceso de compostaje. Los tratamientos 3 y 4 (**Tabla 16**) en materia seca tienen valores ideales de densidad aparente (<0.5 g/mL) lo cual indica que en estos tratamientos existe lugar para el movimiento de aire y agua, pues se pueden formar espacios que sirven para el movimiento y obtención de recursos de los microorganismos que se encuentran en la composta (López *et al.*, 2017) por lo que, gracias a su densidad aparente estos tratamientos serán fáciles de manipular (Abad *et al.*, 2001).

Así mismo, el adicionar la composta seca del tratamiento 3 y 4 (**Tabla 16**) a un sustrato permitirá incrementar los espacios de aire indispensables para el movimiento de microorganismos y transporte de nutrientes hacia las plantas o cultivos, en comparación a los tratamientos 1 y 2 de composta en seco, ya que en este tratamiento será necesaria la adición de un componente que permita generar espacios de aire entre el sustrato (Bárbaro *et al.*, 2019), pues contiene gran cantidad de humedad que impedirá el movimiento de nutrientes (Sullivan y Miller, 2005).

Por otro lado, los únicos tratamientos que tienen los valores de densidad aparente ideal (0.5 - 0.7 g/mL) de la composta húmeda son el tratamiento 3 y 4 (**Tabla 16**), los cuales permitirán la generación de espacios de aire para el buen transporte de nutrientes y microorganismos (Sullivan y Miller, 2005). Es importante mencionar que el sustrato o suelo donde se vierta esta composta debe tener valores de densidad aparente mayores a la composta (Bures, 2002).

VIII. CONCLUSIONES

Este trabajo es un reporte que demuestra la gran diversidad de microorganismos existentes en los desechos orgánicos ricos en nutrientes, como lo es la cerdaza. Las dos especies fúngicas aisladas a partir de la cerdaza e identificadas como *Sarocladium* spp. representan una herramienta potencial en la degradación de la cerdaza, materia sólida que se produce día a día en las granjas de producción porcina en el Valle de Perote y Puebla. Esta capacidad de degradación que mostraron tener los microorganismos se debe a la secreción de enzimas ligninolíticas y celulolíticas.

Además, el producto que se obtuvo a partir del proceso de compostaje de la cerdaza y gracias a la participación de hongos del género *Sarocladium*, muestran que la composta puede ser aprovechada como un mejorador de suelo orgánico, lo cual tiene una repercusión favorable sobre el ambiente y el manejo agrícola. Ya que representa una herramienta disponible y de bajo costo, que permite incrementar la nutrición de los suelos, favoreciendo el desarrollo de microbiota e incluso contribuyendo en la restauración de suelos degradados.

Los objetivos propuestos al inicio de esta tesis se cumplieron, por lo que a partir de esta investigación, se propone usar a estas cepas como agentes de biocontrol de especies fitopatógenas del género *Fusarium*, lo cual resulta de gran interés debido a que año con año, diversos patógenos generan daños en los vegetales y afectan los rendimientos de los cultivos a nivel mundial.

IX. PERSPECTIVAS

Los resultados de esta tesis abren un amplio campo de posibilidades de continuar el trabajo con estos microorganismos. Los aislados con mayor número de positivos en la evaluación cualitativa de actividad enzimática necesitan ser valorados cuantitativamente a partir de métodos espectrofotométricos.

Los aislados con mayor presencia de actividades enzimáticas ligninolíticas y celulolíticas, podrían ser aplicados en diferentes procesos industriales o de biodegradación de materia, desechos o residuos orgánicos.

Las cepas de *Sarocladium* spp. aisladas en este trabajo tienen el potencial de ser usadas como biocontroles en el crecimiento de algunas cepas de hongos fitopatógenos, por lo que se necesitan realizar y evaluar ensayos de antagonismo contra especies de hongos de interés agrícola para conocer a mayor profundidad su capacidad antagónica.

Para conocer con mayor certeza la relación que tienen las cepas de *Sarocladium* spp. aisladas en esta tesis con *S. zeae* y *S. killiense* se necesita hacer uso de otros primers en procesos de amplificación de PCR.

X. REFERENCIAS

- Abad, M., P. Noguera, y S. Burés. (2001). National inventory of organic wastes for use as growing media for ornamental potted plant production: case study in Spain. *Bioresource Technology*, 77(2), 197-200.
- Agrocalidad (2012). Manual de alternativas de tratamiento de purines porcinos. Asociación de Porcicultores ASPE, Ecuador.
- Ahn, HK., Kim, JH., Kwag, JH., Jeong, KH., Choi, DY., Yoo, YH. (2011). "Sustainable research management of livestock and poultry wastes for Asian small-scale farmers" International seminar. Food and Fertilizer Technology Center; Ho Chi Minh, Vietnam. Sustainable animal waste management and utilization in Korean livestock farms. pp. 41-46
- Ahn, HK., Richard, TL. y Glanville, TD. (2008). Optimum moisture levels for biodegradation of mortality composting envelope materials. *Waste Manag*, 28, 1411-1416.
- Akshatha, S. J., & Kalyani, M. I. (2022). Evaluation of Mangrove Soil *Streptomyces* spp. Exhibiting Culture and Biochemical Variation for Determination of Antibacterial Activity. *J Pure Appl Microbiol*.
- Ángel D. (2006). Evaluación de técnicas de conservación para hongos filamentosos y levaduriformes en el cepario de la Pontificia Universidad Javeriana (Tesis de licenciatura). Universidad Pontificia Javeriana. Bogotá D.C., Colombia.
- Araújo, R., Lemes da Silva, V., Carvalho, M.V., Corsi de Filippi, M.C., Sitarama, A. (2017). Characterization of *Sarocladium oryzae* and its reduction potential of rice leaf blast. *Pesq. Agropec. Trop*. 47, 1, 41-52.
- Arbefeville, S., Harris, A., & Ferrieri, P. (2017). Comparison of sequencing the D2 region of the large subunit ribosomal RNA gene (MicroSEQ®) versus the internal transcribed spacer (ITS) regions using two public databases for identification of common and uncommon clinically relevant fungal species. *Journal of Microbiological Methods*, 140, 40-46.
- Aoyama, M., Oba, H., & Aoki, N. (2014). Changes in microbial populations and chemical properties during thermophilic composting of organic waste using rice straw as an amendment. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 118(3), 312-317.
- Ayala, J.F., Vega, V., Rosas, C., Palafox, J., Villa, J. A., Wasim., Dávila, J.E. y González, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44 (7), 1866-1874.
- Bajpai, P. (2018). Chapter 2 - Wood and Fiber Fundamentals. In P. Bajpai (Ed.), *Biermann's Handbook of Pulp and Paper (Third Edition)* (Third Edition, pp. 19-74). Elsevier.
- Barbaro, L., Karlanian, M., Rizzo, P., y Riera, N. (2019). Caracterización de diferentes compost para su uso como componente de sustratos. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 35(2), 126-136.
- Beck-Friis, B., Smårs, S., Jönsson, H., Eklind, Y. & Kirchmann, H. (2003). Composting of source-separated household organics at different oxygen levels: Gaining an understanding of the emission dynamics. *Compost Science & Utilization* 11, 41-50.
- Bhattacharyya, P., Chakrabarti, K., Chakraborty, A., Nayak, D.C., Tripathy, S., Powell, M.A., (2007). Municipal waste compost as an alternative to cattle manure for supplying potassium to lowland rice. *Chemosphere*, 66, 1789-1793.
- Bueno P., Díaz M. y Cabrera F. (2013). Capítulo 4. Factores que afectan al proceso de Compostaje. Recuperado de:

<https://digital.csic.es/bitstream/10261/20837/3/Factores%20que%20afectan%20al%20proceso%20de%20compostaje.pdf>

- Bueno, P., Tapias, R., López, F., Díaz, M., J. (2008). Optimizing composting parameters for nitrogen conservation in composting. *Bioresour. Technol.*, 99, 5069–5077.
- Bumpus J. (1995). Microbial degradation of azo dyes. En: Singh VP (ed) Microbial degradation of health risk compounds. Elsevier, Amsterdam, pp 157–167.
- Burés, S. (2002). Sustratos: propiedades físicas, químicas y biológicas. Informe sobre la industria Hortícola. *Extra*: 70-78.
- Cai, Q. , Mo, C. , Wu, Q. , Zeng, Q. , y Katsoyiannis, A. (2007). Concentration and speciation of heavy metals in six different sewage sludge-composts. *Journal of Hazardous Materials*, 147(3), 1063–1072.
- Calbrix, R., Barray, S., Chabrierie, O., Fourrie, L. & Laval, K., (2007). Impact of organic amendments on the dynamics of soil microbial biomass and bacterial communities in cultivated land. *Appl. Soil Ecol.*, 35: 511-522.
- Campuzano F., Urquijo T. y Valderrama J. (2017). Evaluación de la actividad celulolítica y quitinolítica de hongos filamentosos aislados de rizósfera de cultivos de papa para control de *rhizoctonia solani*. *NOVA*, 15 (28), 45-55.
- Castrillón, O., Bedoya, O., Montoya, D. V., (2006).- Effect of pH on the growth of microorganisms during the maturation stage in static compost piles. *Producción + Limpia*, 1 (2), 8-12.
- Castro, C., Cleenwerck, I., Zuluaga, R., Caro, G., Putaux, J. L., Rojas, O. J., & Gañán, P. (2014). Production of bacterial cellulose: use of a new strain of microorganism. In *HANDBOOK OF GREEN MATERIALS: I Bionanomaterials: separation processes, characterization and properties* pp. 105-122.
- Castro, H.E., Gómez, M.I. (2010). Fertilidad de suelos y fertilizantes. In: Burbano, H., Silva, F. (Eds.), *Ciencia del Suelo*. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Bogotá, pp. 217–303.
- Castro, R. (2008). Marco Legal moderno para la gestión integral de residuos sólidos en Costa Rica. *Ambientico: Por una inmediata Gestión Integral de los Residuos Sólidos*, 178 (7), 7-8.
- CCME (2005): Canadian Council of the Ministers of the Environment. <https://ccme.ca/en/current-activities/canadian-environmental-quality-guidelines>
- Cellier, A., Francou, C., Houot, S., Ballini, C., Gauquelin, T., Baldy, V., (2012). Use of urban composts for the regeneration of a burnt Mediterranean soil: a laboratory approach. *J. Environ. Manage*, 95, 238–244.
- Chaihar, M., Theantana, T., & Pathom-Aree, W. (2020). Evaluation of biocontrol activities of *Streptomyces* spp. against rice blast disease fungi. *Pathogens*, 9(2), 126.
- Chamuris, G. P., Koziol-Kotch, S., & Brouse, T. M. (2000). Screening Fungi Isolated from Woody Compost for Lignin-Degrading Potential. *Compost Science & Utilization*, 8(1), 6–11.
- Chandrasekaran, M., y Bahkali, A.H. (2013). Valorization of date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit processing by-products and wastes using bioprocess technology Review. *Saudi Journal of Biological Sciences* [en línea], 20 (2), 105–120.
- Chater, K. F. (2016). Recent advances in understanding *Streptomyces*. *F1000Research*, 5.
- Chávez, B., Rodríguez, N., Mondragón, C., Avendaño, C., Martínez, M., Vásquez, M. y Estrada, P. (2020). *Paenibacillus polymyxa* NMA1017 as a potential biocontrol agent of *Phytophthora tropicalis*, causal agent of cacao black pod rot in Chiapas, Mexico. *Jan*, 114(1), 55-68.
- Coppenet, M. (1974). L'épandage du lisier de porcheire. Ses conséquences agronomiques. *Annales. Agronomiques*, 25(2-3), 403-423.

- Cropaia (2021). <https://croipaia.com/es/blog/conductividad-electrica-del-agua-y-suelo/>
- Cruz, M.G., Rivera, J.M., Téllez, A., Maqueda, A.P., Mercado, Y. y Arana, A. (2012). Screening for thermotolerant ligni-nolytic fungi with laccase, lipase, and protease activity in Mexico. *J. Environ. Manage*, 95, 256-259.
- Cruz, R., Vieille, P., y Carvajal, L. (2017). El género *Sarocladium*. W. Gams & D. Hawksworth. *Revista chilena de infectología*, 34(4), 377-378.
- Cui, P., Liao, H., Bai, Y., Li, X.i., Zhao, Q., Chen, Z., Yu, Z., Yi, Z., Zhou, S. (2019). Hyperthermophilic composting reduces nitrogen loss via inhibiting ammonifiers and enhancing nitrogenous humic substance formation. *Sci. Total Environ.*, 692, 98–106.
- De Bertoldi, M., Vallini, G., Pera, A., (1983). The biology of composting: a review. *Waste Manage. Res.*, 1, 157–176.
- Deng, Y., Jiang, Y., Yang, F., Wu, J., & Yin, Y. (2021). The occurrence and diversity of fungi in pig manure and their potential hazards to human health. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 39(2), 97-117.
- Dinkova, Tzvetanka D., y Sánchez de Jiménez, Estela. (2010). El ribosoma: lo que nos ha enseñado su estructura. *Educación química*, 21(1), 93-95. R
- Du, G.; Feng, W.; Cai, H.; Ma, Z.; Liu, X.; Yuan, C.; Shi, J.; Zhang, B. (2021). Exogenous Enzyme Amendment Accelerates Maturity and Changes Microflora Succession in Horse and Wildlife Animal Manure Co-Composting. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 28, 21610–21620.
- Duan, H., Ji, M., Xie, Y., Shi, J., Liu, L., Zhang, B. y Sun, J. (2021). Exploring the Microbial Dynamics of Organic Matter Degradation and Humification during Co-Composting of Cow Manure and Bedding Material Waste, 13, 1-19.
- Duan, Y., Awasthi, S. K., Liu, T., Chen, H., Zhang, Z., Wang, Q., ... & Taherzadeh, M. J. (2019). Dynamics of fungal diversity and interactions with environmental elements in response to wheat straw biochar amended poultry manure composting. *Bioresource technology*, 274, 410-417.
- Eggert, C., Temp, U., Dean, J.F.D., y Eriksson, K.E.L. (1996). A fungal metabolite mediates degradation of non-phenolic lignin structure and synthetic lignin by laccase. *FEBS Lett.*, 391, 144-148
- Escobar, M., Mora, J. y Romero, N. (2012). IDENTIFICACIÓN DE POBLACIONES MICROBIANAS EN COMPOST DE RESIDUOS ORGÁNICOS DE FINCAS CAFETERAS DE CUNDINAMARCA. *BOLETÍN CIENTÍFICO CENTRO DE MUSEOS MUSEO DE HISTORIA NATURAL*, 16 (1), 75 - 88. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/bccm/v16n1/v16n1a06.pdf>
- Estrada Salazar, G. I., & Ramírez Galeano, M. C. (2019). Micología general.
- FAO (2013). Greenhouse gas emissions from pig and chicken supply chains - A global life cycle assessment. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma, Italia. [en línea] <http://www.fao.org/docrep/018/i3460e/i3460e00.htm> 06/04/2017
- Felsenstein J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Fernández, L., Rojas, N., Roldán, T., Ramírez, M., Zegarra, H. y Uribe, R. (2006). Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. México, D.F.: Instituto Mexicano del Petróleo y el Instituto Nacional de Ecología; 19-89.
- Field, J, Jong, E., Feijoo-Costa, G. y De Bont J. (1993) Screening for ligninolytic fungi applicable to the biodegradation of xenobiotics. *Trends Biotechnol.*, 11, 44-49.

- Galanakis, C.(2012). Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26 (2), 68–87.
- García, A., León, R., Míreles, S., Castro, J.P., García, A.A., Roa, J.J. y Guerrero, L.A. (2010). Contaminación ambiental en explotaciones porcinas mexicanas e incumplimiento de la norma ambiental. *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, 17 (3), 243-246.
- García-Gómez, A., Bernal, M. P., & Roig, A. (2005). Organic matter fractions involved in degradation and humification processes during composting. *Compost science & utilization*, 13(2), 127-135.
- Giraldo, A., Gené, J., Sutton, D. A., Madrid, H., De Hoog, G. S., Cano, J., ... & Guarro, J. (2015). Phylogeny of *Sarocladium* (Hypocreales). *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 34(1), 10-24.
- Ghosh, P. K., Ramesh, P., Bandyopadhyay, K. K., Tripathi, A. K., Hati, K. M., Misra, A. K.,; Acharya, C. L. (2004). Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping systems in vertisols of semi-arid tropics. I. Crop yields and system performance. *Bioresource Technology*, 95, (1): 77–83.
- Golueke, C. G., (1977). Biological reclamation of organic wastes. Rodale press, Emmaus, Pennsylvania, 249 p.
- Grata, K. (2020). Determining cellulolytic activity of microorganisms. *CHEM DIDACT ECOL METROL*, 25(1-2), 133-143.
- Gutarowska, B., Rembialkowska, E., & Michalczyk, L. (2017). Fusarium fungi in waste materials from swine production. *Waste Management*, 68, 523-531.
- Guzmán, E. (2013). Uso de la cerdaza como componente del sustrato para la producción de pilones de pino; Pastores, Sacatepéquez. (Tesis de licenciatura). Universidad Rafael Landívar sede regional Escuintla. Guatemala.
- Hammel, KE., Tien, M., Kalyanaraman, B., Kirk, TK. (1985). Mechanism of oxidative Ca-Cb cleavage of a lignin model dimer by *Phanerochaete chrysosporium* ligninase. *J. Biol. Chem.*, 260, 8348-8353.
- Heredia, G. (2008). *Tópicos sobre diversidad, ecología y usos de los hongos microscópicos en Iberoamérica*. Xalapa, Veracruz. Editorial: PROAGRAF.
- Huang, C., Zeng, G., Huang, D., Lai, C., Xu, P., Zhang, C., Cheng, M., Wan, J., Hu, L., Zhang, Y., (2017). Effect of *Phanerochaete chrysosporium* inoculation on bacterial community and metal stabilization in lead-contaminated agricultural waste composting. *Bioresour. Technol.*, 243, 294–303.
- Huang, Y., Danyang, L., Shah, G.M., Chen, W., Wang, W., Xu, Y. (2019). Hyperthermophilic pretreatment composting significantly accelerates humic substances formation by regulating precursors production and microbial communities. *Waste Manage*, 92, 89–96. 10.1016/j.wasman.2019.05.021
- Hu, T.J., Zeng, G.M., Huang, D.L., Yu, H.Y., Jiang, X.Y., Dai, F., Huang, G.H., (2007). Use of potassium dihydrogen phosphate and sawdust as adsorbents of ammoniacal nitrogen in aerobic composting process. *J. Hazard. Mater.*, 141, 736–744.
- Hu, X., Chen, J., & Wu, S. (2015). Antibiotic resistance genes and gene transfer events during pig manure composting. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18), 13836-13844.
- Iqbal, H. M., Asgher, M., & Bhatti, H. N. (2018). Optimization of cellulase production from *Fusarium solani* under submerged fermentation using agro-residues as carbon source. *3 Biotech*, 8(7), 300.
- Jeong, Y.K., Hwang, S.J. (2005). Optimum doses of Mg and P salts for precipitating ammonia into struvite crystals in aerobic composting. *Bioresour. Technol.*, 96, 1–6.
- Jeong, Y.K., Kim, J.S., (2001). A new method for conservation of nitrogen in aerobic composting processes. *Bioresour. Technol.*, 79, 129–133.

- Jeris, JS., Regan, RW. (1973). Controlling environmental parameters for optimum composting. Part II *Compost Sci.*, 14, 8–15.
- Jing, D. (2010). Improving the simultaneous production of laccase and lignin peroxidase from *Streptomyces lavendulae* by medium optimization. *Bioresour Technol.*, 101 (19), 7592-7.
- Jurado, M., López, M.J., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M.C., López-González, J.A., Moreno, J., (2014a). Exploiting composting biodiversity: study of the persistent and biotechnologically relevant microorganisms from lignocellulose-based composting. *Bioresour. Technol.*, 162, 283–293.
- Jurado, M.M., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M.C., López, M.J., López-González, J.A., Moreno, J., (2014b). Increasing native microbiota in lignocellulosic waste composting: effects on process efficiency and final product maturity. *Process Biochem.*, 49, 1958–1969.
- Kalemelawa, F., Nishihara, E., Endo, T., Ahmad, Z., Yeasmin, R., Tenywa, M.M., Yamamoto, S. (2012). An evaluation of aerobic and anaerobic composting of banana peels treated with different inoculums for soil nutrient replenishment. *Bioresour. Technol.*, 126, 375–382.
- Kalmis, E., Yasa, I., Kalyoncu, F., Pazarbasi, B. y Kocyigit, A. (2008) Ligninolytic enzyme activities in mycelium of some wild and commercial mushrooms, *African Journal of Biotechnology*, 7 (23), 4314-4320.
- Karak, T., Bhattacharyya, P., Paul, R.K., Das, T., Saha, S.K. (2013). Evaluation of composts from agricultural wastes with fish pond sediment as bulking agent to improve compost quality. *Clean-Soil Air Water*, 41: 711-723.
- Karak, T., Sonar, I., Paul, R., Das, S., Boruah, R., Dutta, A. y Das, D. (2014). Compostaje de estiércol de vaca y residuos de cultivos utilizando termiteros como agente de carga *Biorrecursos. Tecnología*, 169, 731 - 741.
- Kavanagh, K. (2005) Fungi biology and applications. 267 p.
- Kebibeche, H., Khelil, O., Kacem, M. y Kaid Harche, M. (2019). Addition of Wood Sawdust during the Co-Composting of Sewage Sludge and Wheat Straw Influences Seeds Germination. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 168, 423–430.
- Kemp, N. D., Vaughan, M. M., McCormick, S. P., Brown, J. A., & Bakker, M. G. (2020). *Sarocladium zeae* is a systemic endophyte of wheat and an effective biocontrol agent against *Fusarium* head blight. *Biological Control*, 149, 104329.
- Khan, N., Clark, I., Sanchez-Monedero, M.A., Shea, S., Meier, S., Bolan, N. (2014). Maturity indices in co-composting of chicken manure and sawdust with biochar. *Bioresour. Technol.* 168, 245–251.
- Kim, E., Lee, D.H., Won, S. y Ahn, H. (2016). Evaluation of Optimum Moisture Content for Composting of Beef Manure and Bedding Material Mixtures Using Oxygen Uptake Measurement. *Asian-Australas J Anim Sci.*, 29 (5), 753-758.
- Kirk, T., y Cullen, D. (1998) Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi. En: Young R, Akhtar M, editors. *Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Krátká, J. y Kováčiková, E. (1979) The effect of temperature and age of strains of *Fusarium oxysporum* on its enzymatic activity, *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Zweite Naturwissenschaftliche Abteilung: Mikrobiologie der Landwirtschaft, der Technologie und des Umweltschutzes*, 134(2), 154-158.

- Kumar, M. Kumar, A., Singh, P. y Khan, J. (2015). Co-composting of organic fraction of municipal solid waste mixed with different bulking waste: Characterization of physicochemical parameters and microbial enzymatic dynamics. *Bioresource Technology*, 182, 200-207
- Kumar, R., Singh, S., Singh, O. V., & Singh, R. P. (2014). Biodegradation kinetics of acid violet dye using fungal strain *Fusarium oxysporum*. *Journal of Environmental Management*, 133, 258-266.
- Kumar, R., y Wayman, CE. (2009). Cellulase adsorption and relationship to features of corn stover solids produced by leading pretreatments. *Biotechnology and Bioengineering*, 103, 252-267.
- Laboratorio química y biología ECCI. (25 de febrero de 2021). Densidad aparente en húmedo y en seco. [Video] Youtube. https://www.youtube.com/watch?v=_64_jjINyFw
- Laich, F. (2011). El papel de los microorganismos en el proceso de compostaje. Fertilidad y Calidad del Suelo. Experiencias de fertilización orgánica en platanera. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias.
- Larney, F.J., Sullivan, D.M., Buckley, K.E., Eghball, B., (2006). The role of composting in recycling manure nutrients. *Can. J. Soil Sci.*, 86, 597–611.
- Lee, J., Rahman, M., Ra, C. (2009). Dose effects of Mg and PO₄ sources on the composting of swine manure. *J. Hazard. Mater.*, 169, 801–807.
- Liang, C., Das, K.C., McClendon, R.W. (2003). The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. *Bioresour Technol.*, 86, 131–137.
- Li, C., Li, H., Yao, T., Su, M., Ran, F., Han, B., ... & Gun, S. (2019). Microbial inoculation influences bacterial community succession and physicochemical characteristics during pig manure composting with corn straw. *Bioresource technology*, 289, 121-653.
- Li, Guohua, Li, Haigang, Leffelaar, Peter A., Shen, Jianbo, Zhang, Fusuo. (2014). Characterization of phosphorus in animal manures collected from three (dairy, swine, and broiler) farms in China. *PLoS ONE* 9 (7), e102698.
- Li, G., Zhu, Q., Niu, Q., Meng, Q., Yan, H., Wang, S., y Li, Q. (2020). The degradation of organic matter coupled with the functional characteristics of microbial community during composting with different surfactants. *Bioresource Technology*, 124446.
- Li, M., Xu, J., Jiang, Z., Li, Q., (2020). Molecular understanding of autotrophic CO₂-fixing bacterial communities in composting based on RuBisCO genes analysis. *Journal of biotechnology*, 320, 36–43. 10.1016/j.jbiotec.2020.06.010
- Li, X.J., Zhang, R.H., Pang, Y.Z. (2008). Characteristics of dairy manure composting with rice straw. *Bioresour Technol.*, 99, 359–367.
- Li, Y., Zhang, G., Xu, P., Zhou, S., Li, Y., Ma, L., Yang, Z., Wu, Y. (2022). Effects of Exogenous Bacterial Agents on Material Transformation and Microbial Community Composition during Composting of Tomato Stalks. *Sustainability*, 14, 16284.
- Li, Y., Zhu, M., Shen, Q., Yan, Y., Zhang, R., & Cheng, J. (2018). Production, purification and characterization of cellulase from *Fusarium oxysporum* cultured in solid state medium of paddy straw. *Biochemical Engineering Journal*, 135, 42-49.
- Liu, X. B., Guo, Z. K., & Huang, G. X. (2017). *Sarocladium brachiariae* sp. nov., an endophytic fungus isolated from *Brachiaria brizantha*. *Mycosphere*, 8(7), 827-834.
- Liu, X. B., Guo, Z. K., & Huang, G. X. (2017). *Sarocladium brachiariae* sp. nov., an endophytic fungus isolated from *Brachiaria brizantha*. *Mycosphere*, 8(7), 827-834.

- Lin, W.-R., Tan, S.-I., Hsiang, C.-C., Sung, P.-K., Ng, I.S., (2019). Challenges and opportunity of recent genome editing and multi-omics in cyanobacteria and microalgae for biorefinery. *Bioresour. Technol.*, 291, 121932.
- López, E., Andrade, A. J., Herrera, M., Gonzalez, O. y García, A. (2017). Propiedades de un compost obtenido a partir de residuos de la producción de azúcar de caña. *Centro Agrícola*, 44(3), 49-55.
- López, R., Hurtado, M. D., & Cabrera, F. (2002). Compost properties related to particle size. *WIT Transactions on Ecology and the Environment*, 56.
- López R. R. (2011) Biodiversidad de la microbiota rizosférica de dos especies solanáceas: (*Solanum lycopersicon*, L.) y *Datura* spp. (tomate y toloache. Instituto Politécnico Nacional.
- López, W. (2010). Estudio del uso de residuos industriales no peligrosos a través del proceso de compostaje y su aplicación para el cultivo de maíz y frijol. Tesis de maestría. Centro de investigación en biotecnología aplicada: Instituto Politécnico Nacional. Tlaxcala, Tlaxcala.
- Machado K., Matheus D. y Bononi V. (2005). LIGNINOLYTIC ENZYMES PRODUCTION AND REMAZOL BRILLIANT BLUE R DECOLORIZATION BY TROPICAL BRAZILIAN BASIDIOMYCETES FUNGI. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36, 246-252. ISSN 1517-8382.
- Mahalingam, P. U., y P, M. R. R. (2014). Screening and characterization lignin degrading fungi from decayed sawdust Pelagia *Research Library Pelagia Research Library*, 4(5), 90–94.
- Majumdar, S., Lukk, T., Solbiati, J. O., Bauer, S., Nair, S. K., Cronan, J. E., & Gerlt, J. A. (2014). Roles of small laccases from *Streptomyces* in lignin degradation. *Biochemistry*, 53(24), 4047-4058.
- Marosz, A., (2012). Effect of green waste compost and mycorrhizal fungi on calcium, potassium, and sodium uptake of woody plants grown under salt stress. *Water, Air, Soil Pollut.*, 223, 787–800.
- Martínez-Anaya, C., Balcázar-López, E., Dantán-González, E., & Folch-Mallol, J. L. (2008). Celulasas fúngicas: Aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 50(3-4), 119-131.
- Mejía, G., Amanda, I., Jiménez, T., Gloria A., y Segura S. (2004). OBTENCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN CULTIVOS SUMERGIDOS DEL PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM CON ADICIÓN DE SUSTRATOS POLIMÉRICOS. *Vitae*, 11(2), 35-41.[fecha de Consulta 17 de Julio de 2022]. ISSN: 0121-4004. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169817839006>
- Meng, Q.; Yang, W.; Men, M.; Bello, A.; Xu, X.; Xu, B.; Deng, L.; Jiang, X.; Sheng, S.; Wu, X. (2019). Microbial Community Succession and Response to Environmental Variables During Cow Manure and Corn Straw Composting. *Front. Microbiol.* 10, 529.
- Mezzomo, R., Mengue, J., Poletto, T. y Boff, M. (2018). Mycelial growth and sporulation of *Fusarium* spp. pathogenic to *ilex paraguariensis* in different culture media and under exposure to different light levels. *Scientia Agraria*, 19(1), 14.
- Miller, F.C. (1993). Composting as a process based on the control of ecologically selective factors. Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management. Metting, Jr. F.B. and New York: Marcel Dekker, Inc.: 515-576.
- Mora, J.R., (2006). Contribuciones del compost al mejoramiento de la fertilidad de los suelos. *Rev. Luna Azul*, 9-10, 1–6.
- Morales, A.B., Bustamante, M.A., Marhuenda-Egea, F.C., Moral, R., Ros, M., Pascual, J. A. (2016). Agri-food sludge management using different co-composting strategies: study of the added value of the composts obtained. *J. Clean Prod.*, 121, 186–197.

- Morales, D., Ruiz, K., Martínez, M. M., Soto, A. B., Falcony, C., Rodríguez, R., & Pedroza, A. M. (2010). Desarrollo de un bioadsorbente laminar con *Phanerochaete chrysosporium* hipertolerante al cadmio, al níquel y al plomo para el tratamiento de aguas. *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(3), 111–118.
- MURWIRA, H. K., KIRCHMANN, H., & SWIFT, M. J. (1990). The effect of moisture on the decomposition rate of cattle manure. *Plant and Soil*, 122(2), 197–199. <http://www.jstor.org/stable/42938410>
- NCh2880 (2003). Compost - Clasificación y requisitos. División de Normas del Instituto Nacional de Normalización. 7 de noviembre de 2003. Chile.
- Nguyen, H. T., Pokhrel, A. R., Nguyen, C. T., Pham, V. T. T., Dhakal, D., Lim, H. N., ... & Sohng, J. K. (2020). *Streptomyces* sp. VN1, a producer of diverse metabolites including non-natural furan-type anticancer compound. *Scientific reports*, 10(1), 1756.
- Niku, M.L., Karhunen, E., Salola, P., Raunio, V. (1988). Ligninolytic enzymes of the white-rot fungus *Phlebia radiata*. *Biochem. J.*, 254, 877-884.
- Nishanth, D., Biswas, D.R. (2008). Kinetics of phosphorus and potassium release from rock phosphate and waste mica enriched compost and their effect on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum*). *Bioresour. Technol.*, 99, 3342– 3353.
- Nóbrega, G. N., Ferreira, T. O., Artur, A. G., de Mendonça, E. S., Raimundo, R. A., Teixeira, A. S., & Otero, X. L. (2014). Evaluation of methods for quantifying organic carbon in mangrove soils from semi-arid region. *Journal of Soils and Sediments*, 15(2), 282–291.
- Norma Mexicana (2018). NMX-AA-180-SCFI. QUE ESTABLECE LOS MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS PARA EL TRATAMIENTO AEROBIO DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS Y DE MANEJO ESPECIAL, ASÍ COMO LA INFORMACIÓN COMERCIAL Y DE SUS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS PRODUCTOS FINALES. Diario Oficial de la Federación. 3 de abril. México, D. F
- Nouri, M., Askary, H., Imani, S. y Zare R. (2014). Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hibernating sites of Sunn Pest (*Eurygaster integriceps*) on Ilam Mountains, Iran. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 3(12), 314-325.
- Ogbodo, E. N. (2013). Impact of the use of inorganic fertilizers to the soils of the ebonyi state agro-ecology, south-eastern Nigeria. *J. Environ. Earth Sci.*, 3, 33-38
- Olivares C, Roberto, Alfaro L, Jorge, Díaz J, M. Cristina, & Thompson M, Luis. (2005). Fusariosis diseminada por *Fusarium oxysporum* en un paciente adulto con leucemia mieloide aguda y neutropenia severa febril. *Revista chilena de infectología*, 22(4), 356-360.
- Oropeza, G.N. (2006). Lodos residuales: estabilización y manejo. Departamento de Ingeniería, Universidad de Quintana Roo. Boulevard Bahía s/n esq. Ignacio Comonfort, Col. del Bosque Chetumal, Quintana Roo, México.
- Osma, J.F., Toca-Herrera, J.L. y Rodríguez-Couto, S. (2010). Uses of laccase in the food industry. *Enzyme Res.*
- Panda, K. K., & Mishra, M. K. (2019). Effect of various sources of nutrients on growth of *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams and Hawksworth causing sheath rot of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 3131-3135.
- Park, H. J., Lee, J. H., Lim, S. E., Kim, Y. J., & Kim, J. S. (2019). Characterization of fungal community and its potential for lignocellulosic biomass decomposition during cow manure and sawdust composting. *Journal of Environmental Management*, 232, 574-582. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.11.039>
- Paszczynski, A., Pasti-Grigsby, M., Goszczynski, S., Crawford, R. y Crawford, D. (1992). Mineralization of sulfonated azo dyes and sulfanilic acid by *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*. *Appl Environ Microbiol*, 58, 3598–3604.

- Pedroza, A.M., Matiz, A., Quevedo, B., Aguirre, A. (2007). Manual de introducción a la Biotecnología. Primera Edición. Bogotá DC., Colombia. Capítulo 4: 39-43.
- Pepe, O., Ventrino, V., Blaiotta, G. (2013). Dynamic of functional microbial groups during mesophilic composting of agro-industrial wastes and free-living (N₂)-fixing bacteria application. *Waste Manage*, 33, 1616–1625.
- Provenzano, M. R., de Oliveira, S. C., Santiago Silva, M. R., & Senesi, N. (2001). Assessment of maturity degree of composts from domestic solid wastes by fluorescence and Fourier transform infrared spectroscopies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(12), 5874-5879.
- Punja, Z. (2020). First report of *Fusarium proliferatum* causing crown and stem rot, and pith necrosis, in cannabis (*Cannabis sativa* L., *marijuana*) plants. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 43 (2), 236-255.
- Puri, M., Sharma, D. y Barrow, C.J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in biotechnology*, 30 (1), 37–44.
- Radke, J.K., R.W. Andrews, R.R. Janke, S.E. Peters. (1988). Low-input cropping systems and efficiency of water and nitrogen use. W.L. Hargrove (Ed.), *Cropping Strategies for Efficient Use of Water and Nitrogen*. ASA Special Publication No. 51. ASA, CSSA and SSSA, Madison, WI. pp. 193-218
- Ramos, N., Silva, V., Pereira, L., & Vaz-Moreira, I. (2020). Fungal communities in pig slurry from different swine farms and their potential public health hazard. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 55(5), 462-470.
- Rashad, F., Saleh, W. y Moselhy, M. (2010). Bioconversion of rice straw and certain agro-industrial wastes to amendments for organic farming systems: 1. Composting, quality, stability and maturity indices. *Bioresour. Technol.*, 101, 5952 - 5960.
- Rawoteea, S. A., Mudhoo, A., Kumar, S. (2017). Co-composting of vegetable wastes and carton: Effect of carton composition and parameter variations. *Bioresour. Technol.*, 227, 171–178.
- Riyadi, F.A., Tahir, A.A., Yusof, N., Sabri, N.S.A., Noor MJMM, Akhir FNMD, Othman N, Zakaria Z, Hara H. (2020). Enzymatic and genetic characterization of lignin depolymerization by *Streptomyces* sp. S6 isolated from a tropical environment. *Sci Rep.*, 10(1), 7813.
- Rodríguez C., S., Moldes, D., y Sanromán, A. (2015). Bioremediation of dyes by fungi. In: *Handbook of Bioremediation*. Springer, Dordrecht.
- Rodríguez, O V., y Hansen, H. (2007). Obtención de dextrano y fructosa, utilizando residuos agroindustriales con la cepa *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512-F. *Revista de la Escuela de Ingeniería de Antioquia, Medellín (Colombia)*, 7, 159-172.
- Román, P., Martínez, M. y Pantoja, A. (2013). MANUAL DE COMPOSTAJE DEL AGRICULTOR. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura Oficina Regional para América Latina y el Caribe Santiago de Chile,
- Roy, E. D. (2017). Phosphorus recovery and recycling with ecological engineering: A review. *Ecological engineering*, 98, 213-227.
- Ruiz, F.J., Fernández E., Barrasa J.M., Hammel K.E. y Martínez A.T. (2014). What basidiomycete genomes teach us about wood biodegradation mechanisms. *Memorias. 13th European Workshop on Lignocellulosic and Pulp*. Sevilla, España. pp 111-114.
- Ruvalcaba, J., Arteaga, R., Domínguez, G., Galindo, A., Salazar, G., Martínez, D., y Delgado, J. (2019). Uso de bacterias ácido lácticas para descontaminación de estiércol porcino mediante ensilaje experimental. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(1), 247–257.

- Saenz, M.N. (2009). Evaluación del papel de los microorganismos lignocelulolíticos sobre los residuos vegetales en suelos rizosféricos de papa criolla *Solanum phureja* en municipios de Cundinamarca [Internet]. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/8468/>
- Sánchez, Ó. J., Ospina, D. A., & Montoya, S. (2017). Compost supplementation with nutrients and microorganisms in composting process. *Waste Management*, 69, 136–153.
- Saval, S. (2012). Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *BioTecnología*, 16 (2).
- Schliephake, K., Mainwaring, D., Lonergan, G. y Jones, I., Baker W. (2000). Transformation and degradation of the disazo dye Chicago Sky Blue by a purified laccase from *Pycnoporus cinnabarinus*. *Enzyme Microb Technol*, 27, 100–107.
- Schoch CL, *et al.* NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). 2020: baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187.
- Sethi, S., Kumar, R., & Gupta, S. (2013). Antibiotic production by microbes isolated from soil. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(8), 2967.
- Shah, V., y Nerud, F. (2002). Lignin degrading system of white-rot fungi and its exploitation for dye decolorization. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(10), 857-80.
- Sharma, A., Aggarwal, N. y Yadav, A. (2017). Isolation and Screening of Lignolytic Fungi from Various Ecological Niches. *Universal Journal of Microbiology Research*, 5(2), 25-34.
- Shi, J.G., Zeng, G.M., Yuan, X.Z., Dai, F., Liu, J., Wu, X.H., (2006). The stimulatory effects of surfactants on composting of waste rich in cellulose. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 22, 1121–1127.
- Shilev, S., Naydenov, M., Vancheva, V., Aladjadjiyan, A., (2007). Composting of food and agricultural wastes. In: Oreopoulou, V., Russ, W. (Eds.), *Utilization of By-Products and Treatment of Wastes in the Food Industry*. Springer, 283– 301.
- SIAP (2019). Resumen de la producción pecuaria en México. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [en línea]. <https://www.gob.mx/siap> 28/06/15
- Sivakumar, U., Kalaichelvan, G., & Ramasamy, K. (2004). Protoplast fusion in *Streptomyces* sp. for increased production of laccase and associated ligninolytic enzymes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20, 563-568.
- Song, Y., Li, R., Wang, Y., Hou, Y., Chen, G., Yan, B., ... & Mu, L. (2022). Co-composting of cattle manure and wheat straw covered with a semipermeable membrane: organic matter humification and bacterial community succession. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-14.
- Stolz. A. (2001) Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56, 69–80.
- Sullivan, D.M. y R.O. Miller. (2005). Propiedades cualitativas, medición y variabilidad de los compost. En: Utilización de Compost en los Sistemas de Cultivo Hortícola. Ed. P.J. Stoffella y B.A. Kahn. Editorial Mundi Prensa, Madrid, págs. 95-119.
- Summerbell, R. C., Gueidan, C., Schroers, H. J., De Hoog, G. S., Starink, M., Rosete, Y. A., ... & Scott, J. A. (2011). *Acremonium* phylogenetic overview and revision of *Glomastix*, *Sarocladium*, and *Trichothecium*. *Studies in mycology*, 68(1), 139-162.
- Sundberg, C. (2005). Improving Compost Process Efficiency by Controlling Aeration, Temperature and pH. (Tesis de doctorado). Uppsala. ISSN 1652-6880, ISBN 91-576-6902-3
- Tamura K. y Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.

- Tamura, T. y Osada, T. (2006). Effect of moisture control in pile-type composting of dairy manure by adding wheat straw on greenhouse gas emission. *Int Congr Ser.*, 1293, 311–314.
- Tamura K., Stecher G., y Kumar S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*.
- Tapia, C. y Amaro, J. (2014). Género *Fusarium*. *Revista chilena de infectología*, 31(1), 85-86.
- Tarayre, C., Bauwens, J., Brasseur, C., Mattéotti, C., Millet, C., Guiot, P. A., ... & Thonart, P. (2015). Isolation and cultivation of xylanolytic and cellulolytic *Sarocladium kiliense* and *Trichoderma virens* from the gut of the termite *Reticulitermes santonensis*. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 4369-4382.
- Teather, R. M., & Wood, P. J. (1982). Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and environmental microbiology*, 43(4), 777–780.
- TMECC (2002): Test Methods for the Examination of Composts and Composting. <https://www.compostingcouncil.org/page/tmecc#:~:text=The%20Test%20Method%20for%20the,at%20the%20point%20of%20sale>.
- Tomati, U., Belardinelli, M., Andreu, M., Galli, E., Capitani, D., Proietti, N., & De Simone, C. (2002). Evaluation of commercial compost quality. *Waste management & research*, 20(5): 389-397.
- Torres, G. G. y V. Zarate, R. (1996). Estudio técnico sobre la factibilidad de tratamiento, manejo y disposición de los lodos residuales de la planta de tratamiento, Monterrey, N. L. México.
- Tortosa, G., Torralbo, F., Maza-Márquez, P., Aranda, E., Calvo, C., González-Murua, C., & Bedmar, E. J. (2020). Assessment of the diversity and abundance of the total and active fungal population and its correlation with humification during two-phase olive mill waste (“alperujo”) composting. *Bioresource Technology*, 295, 122267.
- Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A., & Itävaara, M. (2000). Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource technology*, 72(2), 169-183.
- Uribe, D. y Ortiz M. L. (2011). Nuevo método para la cuantificación de la actividad endoglucanasa basado en el complejo celulosa-rojo congo. *Orinoquia*, 15(1), 7-15. ISSN: 0121-3709. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89621344002>
- Valdés, S. (2018). AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN PARCIAL DE ENZIMAS MICROBIANAS DE TIPO LACASA, PARA LA DEGRADACIÓN DE DESECHOS DE PIÑA; BANANO Y CAÑA. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Costa Rica. Heredia, Costa Rica. <https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/14365/Tesis%20Sandra%20Valdes%20Diaz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Valenzuela, M. H., & Inostroza, N. G. (2019). Fungal communities and their association with organic matter decomposition in pig production systems: A review. *Journal of Environmental Management*, 246, 149-157.
- Varga, M., Suárez, F., López, M. y Moreno, J. (2010) Dinámica de poblaciones microbianas y actividades enzimáticas en procesos de compostaje con diferentes materias primas. *Gestión de residuos*, 30, 71 - 778.
- Vieira, F. y Nahas, E. (2005). Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. *Microbiol Res*, 160(2), 197–202.
- Wang, C., Guo, X., Deng, H., Dong, D., Tu, Q., Wu, W. (2013). New insights into the structure and dynamics of actinomycetal community during manure composting. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(7), 3327–3337.

- Wang, Q., Wang, Z., Awasthi, M.K., Jiang, Y., Li, R., Ren, X., Zhao, J., Shen, F., Wang, M., Zhang, Z., (2016a). Evaluation of medical stone amendment for the reduction of nitrogen loss and bioavailability of heavy metals during pig manure composting. *Bioresour. Technol.*, 220, 297–304.
- Wang, T., Camps-Arbestain, M., Hedley, M., Bishop, P. (2012). Predicting phosphorus bioavailability from high-ash biochars. *Plant Soil*, 357, 173–187.
- Wang, W., Wang, B., Sun, X., Qi, X. (2021). Symptoms and pathogens diversity of Corn Fusarium sheath rot in Sichuan Province, China. *Scientific Reports*, 11(1).
- Wang, W., Yan, L., Cui Z., Gao, Y., y Wang, Y (2011) Characterization of a microbial consortium capable of degrading lignocellulose. *Bioresource Technology*, 102, 9321– 9324.
- Wang, X., Selvam, A., Wong, J.W.C., (2016b). Influence of lime on struvite formation and nitrogen conservation during food waste composting. *Bioresource Technology*, 217, 227–232.
- Wang, X., Zhao, Y., Wang, H., Zhao, X., Cui, H., Wei, Z., (2017). Reducing nitrogen loss and phytotoxicity during beer vinasse composting with biochar addition. *Waste Manage*, 61, 150–156.
- Watanabe, A., Manabe, T., Tohyama, K., & Takano, M. (2014). Diversity and function of fungal community in cattle manure compost. *Microbes and Environments*, 29(4), 434-440.
- Wei, Y., Wei, Z., Cao, Z., Zhao, Y., Zhao, X., Lu, Q., Wang, X., & Zhang, X. (2016). A regulating method for the distribution of phosphorus fractions based on environmental parameters related to the key phosphate-solubilizing bacteria during composting. *Bioresource Technology*, 211, 610–617.
- Wei, Y., Wu, D., Wei, D., Zhao, Y., Wu, J., Xie, X. y Wei, Z. (2019). Improved lignocellulose-degrading performance during straw composting from diverse sources with actinomycetes inoculation by regulating the key enzyme activities. *Bioresource Technology*, 271, 66–74.
- Wei, Y., Zhao, Y., Lu, Q., Cao, Z., Wei, Z., (2018b). Organophosphorus – degrading bacterial community during composting from different sources and their roles in phosphorus transformation. *Bioresource Technology*, 264, 277–284.
- Wei, Y., Zhao, Y., Shi, M., Cao, Z., Lu, Q., Yang, T., ... & Wei, Z. (2018). Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresource Technology*, 247, 190-199.
- Wei, Y., Zhao, Y., Xi, B., Wei, Z., Li, X. y Cao, Z. (2015). Changes in phosphorus fractions during organic wastes composting from different sources. *Bioresource Technology*, 189, 349–356.
- Wei, Z. (2016). Effect of actinobacteria agent inoculation methods on cellulose degradation during composting based on redundancy analysis. *Bioresource Technology*, 219, 196–203.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A. y Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173, 697-703.
- Wesenberg, D., Kyriakides, I. y Agathos S. (2003). White rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnol. Adv.*, 22, 161-187.
- White, P.J., Brown, P.H. (2010). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann. Bot.*, 105, 1073–1080.
- Widiastuti, F., Suharyanto, Wulaningtyas, A. y Sutamihardja (2008). Activity of Ligninolytic Enzymes during Growth and Fruiting Body Development of White Rot Fungi *Omphalina* sp. and *Pleurotus ostreatus*. *HAYATI*, 15 (4), 140-144.
- Winquist, E., Moilanen, U., Mettälä, A., Leisola, M., y Hatakka, A. (2008). Production of lignin modifying enzymes on industrial waste material by solid-state cultivation of fungi. *Biochemical Engineering Journal*, 42(2), 128-132.

- Wu, B., F. y W.Y. Ho N. (2019) Fuel Ethanol Production From Lignocellulosic Biomass, Editor(s): Murray Moo-Young, Comprehensive Biotechnology (Third Edition), Pergamon, pp. 49-65.
- Xie, K., Jia, X., Xu, P., Huang, X., Gu, W., Zhang, F., Yang, S., Tang, S. (2012). Improved composting of poultry feces via supplementation with ammonia oxidizing archaea. *Bioresource Technology*, 120, 70–77.
- Yang, Y., Chen, Y., Cai, J., Liu, X., & Huang, G. (2021). Antifungal activity of volatile compounds generated by endophytic fungi *Sarocladium brachiariae* HND5 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *PloS one*, 16(12), e0260747.
- Yu, F. M., Jayawardena, R. S., Thongklang, N., Lv, M. L., Zhu, X. T., & Zhao, Q. (2022). Morel production associated with soil nitrogen-fixing and nitrifying microorganisms. *Journal of Fungi*, 8(3), 299.
- Zapata, R.D., (2009). El compostaje y los índices para evaluar su estabilidad. In: Marín, M., Arcila, P.J. (Eds.), *Materia Orgánica, Biología del Suelo y Productividad Agrícola*. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Armenia, Colombia, pp. 33–42.
- Zeng, G. M., Huang, D. L., Huang, G. H., Hu, T. J., Jiang, X. Y., Feng, C. L., Chen, Y. N., Tang, L., & Liu, H. L. (2007). Composting of lead-contaminated solid waste with inocula of white-rot fungus. *Bioresource Technology*, 98(2), 320–326.
- Zhang, C., Xu, Y., Zhao, M., Rong, H., & Zhang, K. (2018). Influence of inoculating white-rot fungi on organic matter transformations and mobility of heavy metals in sewage sludge based composting. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 163–168.
- Zhang, D., Luo, W., Yuan, J., Li, G., Luo, Y., (2017). Effects of woody peat and superphosphate on compost maturity and gaseous emissions during pig manure composting. *Waste Manag.*, 68, 56–63.
- Zhang, J., Zeng, G., Chen, Y., Liang, J., Zhang, C., Huang, B., Sun, W., Chen, M., Yu, M., Huang, H., & Zhu, Y. (2014). *Phanerochaete chrysosporium* inoculation shapes the indigenous fungal communities during
- Zhang, L., Sun, X., (2014). Changes in physical, chemical, and microbiological properties during the two-stage co-composting of green waste with spent mushroom compost and biochar. *Bioresource Technology*, 171, 274–284.
- Zhang, M., Wu, F., Wei, Z., Xiao, Y. y Gong, W. (2006). Characterization and decolorization ability of a laccase from *Panus rudis*. *Enzyme Microb. Tech.*, 39, 92-97
- Zhang, S., Yang, X., Hsu, L. C., Liu, Y. T., Wang, S. L., White, J. R., ... & Rinklebe, J. (2021). Soil acidification enhances the mobilization of phosphorus under anoxic conditions in an agricultural soil: Investigating the potential for loss of phosphorus to water and the associated environmental risk. *Science of the Total Environment*, 793, 148-531.
- Zhang, T., Wu, X., Shaheen, S. M., Abdelrahman, H., Ali, E. F., Bolan, N. S., ... & Rinklebe, J. (2022). Improving the humification and phosphorus flow during swine manure composting: a trial for enhancing the beneficial applications of hazardous biowastes. *Journal of hazardous materials*, 425, 127-906.
- Zhang, Y., Zhao, Y., Chen, Y., Lu, Q., Li, M., Wang, X., Wei, Y., Xie, X., Wei, Z., (2016). A regulating method for reducing nitrogen loss based on enriched ammonia-oxidizing bacteria during composting. *Bioresource Technology*, 221, 276–283.
- Zhou, H., Zhao, Y., Yang, H., Zhu, L., Cai, B., Luo, S., Cao, J., Wei, Z. (2018) Transformation of organic nitrogen fractions with different molecular weights during different organic wastes composting. *Bioresource Technology*, 262, 221-228.
- Zhou, W., Li, Y., Zhang, S., & Wang, Q. (2017). Diversity and composition of airborne fungal community associated with particulate matters in pig houses. *Journal of Environmental Sciences*, 59, 66-73.

- Zhou, X., Cong, W., Su, K. y Zhang, Y. (2013). Ligninolytic enzymes from *Ganoderma spp*: current status and potential applications. *Crit. Rev. Microbiol*, 39, 416-426.
- Zhu, J. (2000). A review of microbiology in swine manure odor control. *Agric Ecosyst Environ.*, 78, 93-106.
- Zhu, N. (2006). Composting of high moisture content swine manure with corncob in a pilot-scale aerated static bin system. *Bioresource Technology*, 97, 1870–1875.
- Zhu, N., Zhu, Y., Li, B., Jin, H., & Dong, Y. (2021). Increased enzyme activities and fungal degraders by *Gloeophyllum trabeum* inoculation improve lignocellulose degradation efficiency during manure-straw composting. *Bioresource Technology*, 337, 125-427.

XI. ANEXOS

Secuencias usadas para generar el árbol filogenético

>1ITS4 ITS5 y NL4

GGCCCTATTGCTGTCCGCCCATTTGTGAACATACCTGTTGATCCCTCAGCAGGGTCAGCGTGCGGTGC
CGCCCGGCTCCCGGCGTCCGCCGGGGACAACCAAACTCTGAGGTTATTGTGAATCTCTCAGGGGCG
AAAGCCCGAAAACAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGACCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAC
AACGCAGCGAAATGCGATCAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTGTGAACGCA
CATTGCGCCCGCCGGCACTCCGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCATGACCCCT
TTCGGGGGGGACCTGGTGCTGGGGATCAGCGGCCTCCGGGCCCCGTGTCCCCAAATTGAGTGGCGG
TAGCGCCGCAACCTCCCCTGCGTATTATCACACCTCGCACCGGACAGCGGCTCGGCCACGCCCTGA
AACCCCAATTTTAAAGGTTGACCTCTGATCAGTAGGAATACCCACTGAACCTAAGCATATCATAT
TCAAGACGGGTCAATTGATGACCATTACGCCAGCATCCGTGCCGAAGCGCGTTCCTCAGTCCGCCCCA
GGGCATTACACGAACARGGCTATAACACTCCCCGAAGGGAGCCACATTCCC GCCGCTTTATCCCC
GGGGCAAACCTGATGCTGGCCTGGACTGGCAGAGTGACCGGCGAGAACGCCGGATGTTCAACCAA
GCCCAAGTCTGGTCATGAATGCTTCCCTTTCAACAATTTACGTAATTTTAAACCCTCTTTTCAAAGT
GCTTTTCATCTTTTCGATCACTCTACTTGTGCGCKATCGGTCTCTGGCCGGTATTTAGCTTTAGAAGAC
GTACACCTCCCATTAGAGCAGCATTCCCAAACCTACTCGACTCGTCGAAGGAGCTTTACAGAGGCTT
GGTGGTCTACCGTACGGGGCTCTACCCCTCTATGGCGTCCCKTTCCAGGGAACCTCGGAAGGCACC
TCGCCAAAAGCATCCTCTACAAATTACAACCTCGGACCTGCGGCCAGATTTCAAATWTGAKCYGT
GCCGCTTCACTCGCCGTTACTGAGGCAATCCCTGTTGGTTTCTTTTCTCCGCTA

>2ITS4 ITS5 y NL4

TTACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTGCCCTAGGCTCTCCAACCC
ATTGTGAACATACCTATCGTTCCCTCGGCGGGCTCAGCGCGCGGTGCCTCCGGGCTCCGGGCGTCCG
CCGGGGACAACCAAACTCTGATTTTATTGTGAATCTCTGAGGGGCGAAAGCCCGAAAACAAAATGA
ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
GTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCGGCACTC
CGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCAGGACCCCTTTTCGGGGGGGACCTGGTG
TGGGGATCAGCGGCCTCCGGGCCCCGTGTCCCCAAATTGAGTGGCGGTGCGGCCGCARCTCCCCT
GCGTAGTAGCACACCTCGCACCGGAGAGCGGCTCGGCCACGCCGTGAAACCCCAATTTTTTAAAG
TTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCATCAAGACGGGTCAATTGATGAC
CATTACGCCAGCATCCGTGCCGAAGCGCGTTTCTCAGCWCCGCCCCAGGGCATTACACGACGGGCT
ATAACACTCCCCGAAGGGAGCCACATTCCC GCCGCTTTATCCCCGGGGCAAACCTGATGCTGGCCT
GGACTGGCAGATGCACCGGCGAGAACGCCGATGTTCAACCAAGCCCAAGTCTGGTCTGATGAC
CTTCCCTTTCAACAATTTACGTAATTTTAAACCCTCTTTTCAAAGTGCTTTTCATCTTTTCGATCACTC
TACTTGTGCGCTATCGGTCTCTGGCCGGTATTTAGCTTTAGAAGACGTACACCTCCCATTTAGAGCAG
CATTCCCAAACCTACTCGACTCGTCGAAGGAGCTTTACAGAGGCTTGGTGGTCTACCGTACGGGGCT
CTCACCTCTATGGCGTCCCGTTCAGGGAACCTCGGAAGGCACCTCGCCAAAAGCATCCTCTACAA
ATTACAACCTCGGACCTTGGCGCCAGATTTCAAATTTGAGGSTGYTGCTSGCTTCACTCGCMGYTAGS
TGAGGCAATCCCTGTTGGTTTCTTTTCTCCGCA

>MN844724.1 *Sarocladium kiliense* voucher KoLRI_EL006312 .B

TAGGCTCTCCAACCCATTGTGAACATACCTATCGTTCCCTCGGCGGGCTCAGCGCGCGGTGCCTCCG
GGCTCCGGGCGTCCGCCGGGGACAACCAAACTCTGATTTTATTGTGAATCTCTGAGGGGCGAAAGC
CCGAAAACAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGC
AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCGCCGGCACTCCGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCAGGACCCCTTTTCG
GGGGGGACCTGGTGCTGGGGATCAGCGGCCTCCGGGCCCCGTGTCCCCAAATTGAGTGGCGGTGCG
GCCGCAGCTCCCCTGCGTAGTAGCACACCTCGCACCGGAGAGCGGCTCGGCCACGCCGTGAAAC
CCCCAATTTTTTAAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCATATAGG
CTCTCCAACCCATTGTGAACATACCTATCGTTCCCTCGGCGGGCTCAGCGCGCGGTGCCTCCGGGCT
CCGGGCGTCCGCCGGGGACAACCAAACTCTGATTTTATTGTGAATCTCTGAGGGGCGAAAGCCCGA
AAACAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC
CGCCGGCACTCCGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCAGGACCCCTTTTCGGGGG

GGACCTGGTGCTGGGGATCAGCGGCCTCCGGGCCCCCTGTCCCCCAAATTGAGTGCGGGTCGCGCCG
CAGCCTCCCCTGCGTAGTAG

>HG965027.1 *Sarocladium oryzae* CBS 399.73

TCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTTACCAGAGTGCCATAGGCTCTCCA
ACCCATTGTGAACATACCTATCGTTCCCTCGGCGGGACCAGCGCGCGGCTGCCTCAGGGCTCCGGG
CGTCCGCCGGGGACAGCCAAACTCGAATTTTGCAGTGATTCTCTGAGGGGCGAGAGCCCGAAAAAC
AAAATAAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAAT
GCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCC
GGCACTCCGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCAGGAGCACCCCTTCGGGGCGCAC
CTGGCGCTGGGGATCAGCGGCCCTCGCGGCCCTGTCCCCCAAATTCAGTGGCGGTTCGCGCCGCAG
CCTCCCCTGCGTAGTAGCACAACCTCGCACCGGAGAGCGGAACGACCACGCCGTGAAACCCCCAA
CTTTCCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATATGCCTCAGTA
ACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCGCAAGGTCCGAGTTGTAATTTGCA
GAGGATGCTTTTGGCGAGGTGCCTTCCGAGTTCCCTGGAACGGGACGCCATAGAGGGTGAGAGCCC
CGTACGGTTGGACCACCGAGCCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGT
TCTAAATGGGAGGTGTACGTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGA
GTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGGGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGA
AGCGTTTATGACCAGACTTGGGCTTGGTTGAACATCCGGCGTTCTCGCCGGTGCCTCTGCCAGTCC
AGGCCAGCATCAGTTTGTCCCGGGGGATAAAGGCGGTGGGAATGTGGCTCCCCGGGAGTGTTATA
GCCCCCGGTGCAATGCCCTGGGACGGACTGAGGAACGCGCTTCGGCACGGATGCTGGCGTAATGGT
CATCAACGACCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTCGTCTTCGTATGCGAGTGTTCCGGGTGTCAA
ACCCCTGCGCGTAATGAAAGTGAACGTAGGTGAGAGCTTCGGCGCATCACCGACCGATCCTGATGT
TCTCGGATGGATTTGAGTAAGAGCATAACGGGGCCGGACCCGAAAGAAGGTGAACTATGCCTGTATA
GGGTGAAGCCAGAGGAAACTCTGGTGGAGGCTCGCAGCGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCAA
ATATGGGCATGGGGGCGAAAGACTAATCGA

>HM751086.1 *Sarocladium zeae* culture NRRL45893

TTACCAGAGTGCCCTAGGTCCTCCAACCCATTGTGAACATACCTAACGTTCCCTCGGCGGGCTCAGC
GCGCGGGTGCCTCCGGGCTCCGGGGCGTCCGCGGGGGACAAGCAAACCCTGATTTTATCGTGTATC
TCTGAGGGGCGAAAGCCCGAAAACCAATAAATCACCACCCTCAGGGGCCCTTTCGGGGGGGACCT
GGTGCTGGGATCAGCGGCCTCGGGCCCCCTTTCCCCAAATACAGTGGCGGTTCGCGCCGCAGCCTCC
CCTGCGTAGTAGCACACCTCGCACCGGAGAGCGGTTTCGACCACGCCGTAAAACCCCCAACTTTCCA
AGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAA
GAAACCAACAGGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAAGTGGAAGGCGGCCACCAGCCTCCAAATTTTG
AAAATCCTGGCCCGCAAGGTTCCCGAGTTTGTAAATTTGTAGGAGGGATGCCTTTTTGGCCAAGG
GTGCCCTTCCCGAAGTTTCCCTTGGAACCGGGGACCGCCATAGAAGGGGTGAAGAAGCCCCCGT
TACCGGGTAGGGACCCACCCGAGGCCTCTGTAAAGCTCCTTTTCGGACCGAGGCCGAGTTAGTT
TGGGAATTGCCTGCCTCCAAAATTGGGAAGGGTGGTACGTCTTCTTAAAGCCTAATTACCCGCCCA
GAAGGACCCGTTAGGGCCACAAAGTAGGAGGTGATCCAAAAGGATTGAAAAGCCACTTTGGAAAA
GAAGGGTTTAAAAAGTTACGTGAAAATTTGTTGAAAAGGGGAAGCATTTATGACCAGACTTGGGCT
TGGTGAACCTTCCGCGTTCTCGCCGGTGCCTCTGCCAGTCCAGGCCAGCATCAGTTTGCCCCGG
GGGATAAAGGCGGCGGGAATGTATCTCTCCGGGGAGTGTTATAGCCCGTCGTGTAAATCCCTGGG
GCGGACTGAGGAACCCCTTCGGCACGATGCGCTAT

>HG965047.1 *Sarocladium oryzae* strain CBS 180.74

TGCCTCAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCGCAAGGTCCGAGTT
GTAATTTGCAGAGGATGCTTTTGGCGAGGTGCCTTCCGAGTTCCCTGGAACGGGACGCCATAGAGG
GTGAGAGCCCCGTACGGTTGGACCACCGAGCCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTG
GGAATGCTGCTCTAAATGGGAGGTGTACGTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGC
ACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGGGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTT
GAAAGGGAAGCGTTTATGACCAGACTTGGGCTTGGTTGAACATCCGGCGTTCTCGCCGGTGCCTC
TGCCAGTCCAGGCCAGCATCAGTTTGTCCCGGGGGATAAAGGCGGTGGGAATGTGGCTCCCCGGG
AGTGTTATAGCCCGCCGTGCAATGCCCTGGGACGGACTGAGGAACGCGCTTCGGCACGGATGCTGG
CGTAATGGTCATCAACGACCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTCGTCTTCGTATGCGAGTGTT
GGGTGTCAAACCCCTACGCGTAATGAAAGTGAACGTAGGTGAGAGCTTCGGCGCATCACCGACCGA
TCCTGATGTTCTCGGATGGATTTGAGTAAGAGCATAACGGGGCCGGACCCGAAAGAAGGTGAACTAT
GCCTGTAT

>MK616348.1 *Sarocladium kiliense* strain HKAS 101476

TCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCAGAGTGCCCTAGGCTCTCCAA
CCCATTTGTGAACATACCTATCGTTCCCTCGGCGGGCTCAGCGCGCGGTGCCTCCGGGCTCCGGGCGT
CCGCCGGGGACAACCAAACCTCTGATTTTATTGTGAATCTCTGAGGGGCGAAAGCCCGAAAACAAAA
TGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA
TAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCGCA
CTCGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCAGGACCCCTTTTCGGGGGGGACCTGGT
GCTGGGGATCAGCGGCCTCCGGGGCCCCTGTCCCCCAAATTGAGTGGCGGTGCGCGCCGACGCCTCCC
CTGCGTAGTGCACACCTCGCACCGGAGAGCGGCTCGGCCACGCCGTGAAACCCCAATTTTTTAAG
GTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATA

>MH871182.1 *Sarocladium bactrocephalum* culture CBS.749.69

GGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAAGCGG
CAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCTCACGGTCCGAGTTGTAATTTGTAGAGGATGCTTTTGGCAA
GGTACTTTCCGAGTTCCCTGGAACGGGACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCCGTACGGTTAGACCACC
GAGCCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGGGAGGTGTAC
GTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAA
GCACTTTGAAAAGAGGGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCATTTCATGACCAGACTT
GGGCTTGGTTGAACATCCGGCGTTCTCGCCGGTGCACTCTGCCAGTCCAGGCCAGCATCAGTTTGC
CCCGGGGGACAAAGGCGGTGGGAATGTGGCTCTCTCGGGGAGTGTTATAGCCCGCCGTGTAATGC
CCTGGGGTGGAAGTGAAGAACGCGCTTCGGCACGGATGCTGGCGTAATGGTCATCAATGACCCGTCT
TGAAACACGGACCAAGGAGTCGTCTTCGTATGCGAGTGTTTCGGGTGTCAAACCCCTACGCGTAATG
AAAGTGAACGTAGGTGAGAGCTTCGGCGCATCACCGACCGATCCTGATGTTCTCGGATGGATTTGA
GTAAGAGCATACGGGGCCGGACCCGAAAGAAGGTGAACTATGCCTGTATAGGGTGAAGCCAGAGG
AAACTCTGGTGGAGGCTCGCAGCGGTTCTGAGTGCAAATCGATCGTCAAATATGGGCATGGGGGCG
AAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTTTCCGCCGAAGTT

>MH871457.1 *Sarocladium strictum* culture CBS.346.70

AGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAAGCGG
CAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCTCACGGTCCGAGTTGTAATTTGTAGAGGATGCTTTTGGCGA
GGTGCTTTCCGAGTTCCCTGGAACGGGACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCCGTACGGTAAGACCACC
GAGCCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGGGAGGTGTAC
GTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAA
GCACTTTGAAAAGAGGGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCATTTCATGACCAGACTT
GGGCTTGGTTGAACATCCGGCGTTCTCGCCGGTGCACTCTGCCAGTCCAGGCCAGCATCAGTTTGC
CCCGGGGGACAAAGGCGGTGGGAATGTGGCTCTCTTCGGGGAGTGTTATAGCCCGCCGTGTAATGC
CCTGGGGCGGACTGAGAACGCGCTTCGGCACGGATGCTGGCGTAATGGTCATCAATGACCCGTCTT
GAAACACGGAACCAAGGAGTCGTCTTCGTATGCGAGTGTTTCGGGTGTCAAACCCCTACGCGTAATGA
AAGTGAACGTAGGTGAGAGCTTCGGCGCATCACCGACCGATCCTGATGTTCTCGGATGGATTTGAGT
AAGAGCATACGGGGCCGGACCCGAAAGAAGGTGAACTATGCCTGTATAGGGTGAAGCCAGAGGAA
ACTCTGGTGGAGGCTCGCAGCGGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCAAATATGGGCATGGGGGCGA
AAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTTTCCGCCGAAG

>MH869706.1 *Sarocladium kiliense* culture CBS.146.62

GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAAGCGGC
AACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCGCAAGGTCCGAGTTGTAATTTGTAGAGGATGCTTTTGGCGAG
GTGCCTTCCGAGTTCCCTGGAACGGGACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCCGTACGGTAGGACCACCA
AGCCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGGGAGGTGTACG
TCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAG
CACTTTGAAAAGAGGGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCATTTCATGACCAGACTTG
GGCTTGGTTGAACATCCGGCGTTCTCGCCGGTGCACTCTGCCAGTCCAGGCCAGCATCAGTTTGGCC
CGGGGGATAAAGGCGGCGGGAATGTGGCTCCCTTCGGGGAGTGTTATAGCCCGTCGTGTAATGCCCT
GGGGCGGACTGAGAACGCGCTTCGGCACGGATGCTGGCGTAATGGTCATCAATGACCCGTCTTGAA
ACACGGACCAAGGAGTCGTCTTCGTATGCGAGTGTTTCGGGTGTCAAACCCCTACGCGTAATGAAAG
TGAACGTAGGTGAGAGCTTCGGCGCATCACCGACCGATCCTGATGTTCTCGGATGGATTTGAGTAAG
AGCATACGGGGCCGGACCCGAAAAAAGGTGAACTATGCC
TGTATAGGGTGAAGCCAGAGGAACTCTGGTGGAGGCTCGCAGCGGTTCTGACGTGCAAATCGATC
GTCAAATATGGGCATGGGGGCGAAAGACTAATCKAACCTTCTAGTAGCTGGTTT

>MH866490.1 *Sarocladium kiliense* culture CBS.122.29

GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAACGGCAGTGAAGCGGCA
ACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCGCAAGGTCCGAGTTGTAATTTGTAGAGGATGCTTTTGGCGAGG
TGCTTCCGAGTTCCTTGGAACGGGACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCCGTACGGTAGGACCACCAA
GCCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGGGAGGTGTACGT
CTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGC
ACTTTGAAAAGAGGGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCATTTCATGACCAGACTTGG
GCTTGTTGAAACATCCGGCGTTCTCGCCGGTGCACCTCTGCCAGTCCAGGCCAGCATCAGTTTGCCCC
GGGGGATAAAGGCGGCGGGAATGTGGCTCCCTTCGGGGAGTGTTATAGCCCGTCGTGTAATGCCCC
GGGGCGGACTGAGGAACGCGCTTCGGCACGGATGCTGGCGTAATGGTCATCAATGACCCGTCTTGA
AACACGGACCAAGGAGTCGTCTTCGTATGCGAGTGTTTCGGGTGTCAAACCCCTACGCGTAATGAAA
GTGAACGTAGGTGAGAGCTTCGGCGCATCACCGACCGATCCTGATGTTCTCGGATGGATTTGAGTAA
GAGCATACGGGGCCGGACCCGAAAGAAGGTGAACTATGCCTGTATAGGGTGAAGCCAGAGGAAAC
TCTGGTGGAGGCTCGCAGCGGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCAAATATGGGCATGGGGGCGAAA
GACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTTTCCGCCGAA

>HE608651.1 *Acremonium varicolor* strain CBS 130360

GGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCCCAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTT
GAAATCTGGCCCTAGGCCCGAGTTGTAATTTGTAGAGGATGCTTTTGGCGACGTGCTTTCCGAGTTC
CCTGGAACGGGACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCCGTACGGTCATGCACCTAGCCTCTGTAAACTCC
TTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGGGAGGTATACGTCTTCTAAAGCTAAATA
CCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGGG
TTAAATAGTACGTGAAATTGCTAAAAGGGAAGCACTTATGACCAGACTTGGGCCCCGGTTAATCATCC
AGAGTTCTCTCTGGTGCACCTTGGCCGGCCCAGGCCAGCATCAGTTTCGTGTCGGGGGATAAAGGTTT
CGGGAATGTGGCTCCTCCGGGAGTGTTATAGCCCGTTGCGTAATACCCTGGTGCGGACTGAGGTACG
CG

Constancia de participación en congreso internacional, con apoyo de la Facultad de Ciencias Biológicas.

DFIE/22/E4/068EA/4/Cg&/M/61/241022-271022

 EL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, LA RED DE BIOTECNOLOGÍA DEL IPN, LA UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA Y LA SOCIEDAD ESTUDIANTEL DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA 


Otorgan la presente constancia a:

Cintia Pérez Serrano , Vianey Marín Cevada, Lucero Montserrat Cuautle García

Por su participación como **PONENTE** con la presentación en CARTEL de su trabajo titulado:

"Isolation, identification and evaluation of the enzymatic activity of microorganisms that break down organic fertilizer"

en el **3rd Biotechnology World Symposium** y **4^o Congreso Estudiantil de Ingeniería Biotecnológica SEIBT**.


Dra. María Guadalupe Sotelo
Directora de UPIBI


Dra. Norma Leyva
Coordinadora de la Red de Biotecnología


Hannia Sinaí Martínez Sánchez
Presidenta de la SEIBT

Mazatlán, Sinaloa, México del 24 al 27 de octubre de 2022



Isolation, identification and evaluation of the enzymatic activity of microorganisms that break down organic fertilizer

Aislamiento, identificación y evaluación de la actividad enzimática microorganismos descomponedores de un abono orgánico

Cintia Pérez-Serrano¹, Vianey Marín-Cevada^{1*}, Lucero Montserrat Cuautle-García¹

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México

*Corresponding author

*Email: vianey.marin@correo.buap.mx

Abstract history

Received: / 22 August 2022/ Received in revised form: / 23 August 2022/

Accepted: / 29 August 2022/ Published online: / 11 November 2022/

ABSTRACT

The production of animal source foods is one of the main economic activities in Mexico, and this produces a lot of organic waste and consequent pollution. The present study investigated the effectiveness of using microorganisms as biodegraders of pig manure (product of swine production farms) with the potential for use in composting and reducing environmental damage. Fourteen microorganisms isolates were obtained: filamentous fungi, and actinobacteria from swine manure sample; the microorganisms were characterized through macro and microscopic morphology. Moreover, for enzyme activity determination used qualitative plate assay method used azo dyes (congo red and methyl orange), gualacol, and tannic acid; the positive reaction was indicated by the formation of decolorization around the colony; this indicated enzyme secretion such as cellulase, laccase and oxid peroxidase, respectively, which degrading the main swine manure components, lignin, and cellulose. Besides, was selected two actinobacteria strains for evaluating potential swine manure degradation. This assay showed that inoculated actinobacteria could contribute to this and that they can antagonize phytopathogenic fungi (*Fusarium* sp.).

RESUMEN

La producción de alimentos de origen animal es una de las principales actividades económicas en México, la cual genera una gran cantidad de desechos orgánicos y consecuente contaminación. En este trabajo se evaluó la efectividad del uso de microorganismos como biodegradadores de cerdaza (desecho de producción porcina) con potencial de ser utilizados en el proceso de compostaje y minimizar los daños ambientales. Se obtuvieron 14 aislados de hongos microscópicos filamentosos y actinobacterias, obtenidos a partir de una muestra de cerdaza; los microorganismos se caracterizaron mediante su morfología macro y microscópica. Además, se evaluó su actividad enzimática mediante pruebas cualitativas con colorantes azólicos (naranja de metilo, rojo congo), guayacol y ácido tánico, los cuales permitieron evidenciar, a partir de la presencia de halos, la producción de enzimas como celulasa, lacasa y óxido peroxidasa respectivamente, encargadas de degradar los dos principales componentes de la cerdaza: lignina y celulosa. Así mismo, se seleccionaron dos cepas de actinobacterias para evaluar su potencial de degradación en la cerdaza. A partir de este ensayo, se observó que las actinobacterias inoculadas son capaces de contribuir en la degradación de la cerdaza, además, se observó que tienen una participación para antagonizar a hongos filamentosos patógenos (*Fusarium* sp.).

INTRODUCCIÓN

En México se produce aproximadamente 1.8 millones de toneladas de carne de ganado porcino al año (SIAP, 2019), los desechos generados provocan una gran contaminación ambiental ya que se les ha dado un mal manejo (FAO, 2013). Sin embargo, los residuos correctamente tratados representan una gran fuente de nutrientes y pueden ser utilizados en diferentes ámbitos, como en el agrícola, al usarse como biofertilizantes, en donde las actividades enzimáticas de los microorganismos representan una herramienta, ya que permiten descomponerlos y hacer que los nutrientes contenidos en estos residuos estén biodisponibles para las plantas (Torres y Zarate, 1996).

OBJETIVOS

General

General
Evaluar la participación de microorganismos en la descomposición de la cerdaza.

Particulares

- Purificar microorganismos aeróbicos presentes en la cerdaza.
- Identificar morfológicamente a los microorganismos con actividad degradativa presentes en la cerdaza.
- Determinar cualitativa y semi-cuantitativamente la actividad enzimática lignolítica y celulolítica de los aislados obtenidos que presentaron halos de actividad enzimática más grandes y/o definidos.
- Caracterizar los aislados con mayor capacidad degradativa de los polímeros (lignina y celulosa).
- Estudiar el comportamiento de los aislados obtenidos con mayor potencial al incorporarse en la cerdaza mezclada con suelo franco arenoso mediante un proceso de compostaje.

METODOLOGÍA



RESULTADOS

Ensayos de antagonismo



Tabla 2. Evaluación cualitativa de la actv. enzimática celulolítica y ligninolítica de las cepas aisladas a partir de la cerdaza.

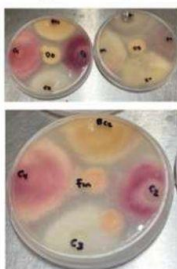


Fig 1. Pruebas de antagonismo de actinobacterias seleccionadas contra hongos del género *Fusarium*.

Cepo	Vista anterior	Vista posterior	Vista (con endoscopia cepo)	Vista con microscopio óptico 40X (3° de circunferencia)	Vista con microscopio óptico 100X (3° de circunferencia)
EM					
FM					

Tabla 3. Morfología macro y microscópica de los *Streptomyces* spp. seleccionadas.

RESULTADOS



Cerdaza al inicio (arriba) y al final (abajo) del proceso de compostaje.

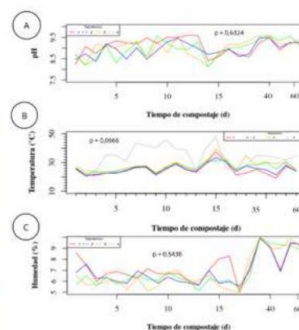


Fig. 2 Cambios en el A) pH B) temperatura C) humedad durante el proceso de compostaje (64 d) en los diferentes tratamientos:

CONCLUSIONES

- El uso de colorantes azoicos permite conocer la actividad enzimática de bacterias y hongos a partir de halos de hidrólisis.
- Los aislados obtenidos del género *Streptomyces* degradan polímeros contenidos en la cerdaza además, tiene la capacidad de inhibir a algunos microorganismos del género *Fusarium* (fitopatógeno).
- El uso de microorganismos en el compostaje permite reducir el volumen de desechos orgánicos e incrementar el proceso de degradación.

PERSPECTIVAS

- Efectuar análisis fisicoquímicos a la cerdaza tratada con las dos cepas DB y FM pertenecientes al género *Streptomyces*.
- Realizar la caracterización molecular de las dos cepas que mostraron potencial degradativo.
- Llevar a cabo pruebas de eficiencia biológica en invernadero/campo utilizando la cerdaza sometida a un tratamiento de compostaje e inoculada con los aislados obtenidos.
- Evaluar la actividad antifúngica de las cepas con potencial degradativo *in planta* e *in situ*.

REFERENCIAS

- FAO (2013). CHEM DIDACT ECOL METROL, 25(1-2), 133-143.
- SIAP (2019). <https://www.gob.mx/siap/28/06/15>
- Torres, G. G. y V. Zarate, R. (1996). Estudio técnico sobre la factibilidad de tratamiento, manejo y disposición de los lodos residuales de la planta de tratamiento, Monterrey, N. L. México.

AGRADECIMIENTOS

Granjas Carroll de México
 Biól. Agustín Licona
 P. Lic. Biól. Monserrat Lozada Mellado