

# Identificación de hongos presentes en el biosólido municipal compostado y la turba<sup>1</sup>

Grisselle E. Pérez-Sánchez<sup>2</sup>, María del Carmen Librán-Salas<sup>3</sup>,  
Lydia I. Rivera-Vargas<sup>4</sup> y Myrna Alameda-Lozada<sup>5</sup>

J. Agric. Univ. PR. 98(2):179-193 (2014)

## RESUMEN

El biosólido municipal compostado (BMC) es utilizado como un medio alternativo a la turba en cultivos ornamentales. Los productores de ornamentales han demostrado escepticismo al uso del BMC como sustrato por entender que podría contener microorganismos patógenos. El objetivo de esta investigación fue la identificación de hongos en BMC que se obtuvo de la planta de composta de la Autoridad de Acueductos y Alcantarillados de Mayagüez, Puerto Rico. Las muestras analizadas se obtuvieron de pilas aerostáticas diferentes en distintas fechas. Los tratamientos evaluados fueron cuatro muestras de BMC y un control, turba 100%, los cuales se replicaron tres veces. Se realizaron diluciones seriadas desde  $10^1$  a  $10^4$  a partir de 10 g de cada tratamiento. Las diluciones se transfirieron a agar OHIO y se incubaron a 28 y 45° C. En todos los tratamientos de BMC y turba se observó crecimiento de hongos a 28° C; a 45° C solo se observó crecimiento en el Control (T5). Se seleccionaron tres colonias al azar por plato Petri. Se identificaron 21 especies de hongos. Los géneros identificados incluyen: *Aspergillus* sp., *Conidiobolus* sp., *Curvularia* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma* sp. y *Scopulariopsis* sp. Los hongos identificados en el BMC han sido clasificados como saprófitos y antagonistas. Se identificó a *Aspergillus fumigatus* Fresen, especie reportada como patógeno humano, en el tratamiento de turba.

Palabras claves: biosólido municipal compostado, composta, *Aspergillus fumigatus*, turba

## ABSTRACT

Identification of fungi in municipal sewage sludge compost and in peat

Municipal sewage sludge compost (MSC) is used as an alternate peat media in ornamental plants. Ornamental producers have demonstrated skepticism toward the use of MSC as a substratum because they understand it may contain pathogenic microorganisms. The objective of this study was the identification of fungi in MSC obtained from the compost plant of the

<sup>1</sup>Manuscrito sometido a la junta editorial el 3 de septiembre de 2013.

<sup>2</sup>Estudiante Graduada, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

<sup>3</sup>Catedrática, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales.

<sup>4</sup>Catedrática, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales.

<sup>5</sup>Excatedrática, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales.

Acueducts and Sewage Authority in Mayagüez, Puerto Rico. The samples were obtained from different piles. The treatments were four samples of MCS and one control, 100% peat, replicated three times. Serial dilutions from  $10^{-1}$  to  $10^{-4}$  were developed by means of 10 g of each treatment. The medium OHIO was used to grow fungi at 28 and 45° C. For each treatment of MSC and peat, fungi growth was observed at 28° C; at 45° C growth was observed only in the control. Three colonies were selected at random from petri dishes; 21 species of fungi were identified from genus: *Aspergillus* sp., *Conidiobolus* sp., *Curvularia* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma* sp., and *Scopulariopsis* sp. The fungi identified in MSC were classified as saprophytic and antagonistic. *Aspergillus fumigatus* Fresen, a species reported as a human pathogen, was identified in peat.

**Key words:** municipal sludge compost, compost, *Aspergillus fumigatus*

## INTRODUCCIÓN

El proceso de compostaje del biosólido municipal compostado (BMC) es aeróbico por medio de pila aerostática combinando fases mesofílicas y termofílicas. Durante el proceso de descomposición y purificación de los lodos actúan varios grupos de microorganismos como las bacterias, actinomicetos y hongos (Taiwo y Oso, 2004). La diversidad en las poblaciones de microorganismos varía según los cambios en las temperatura (EPA, 1998). Los hongos mesofílicos abundan en el periodo inicial, en cambio los actinomicetos se mantienen en la fase termofílica en la que se alcanzan temperaturas de hasta 65° C. Es bajo esas condiciones que se eliminan los microorganismos patógenos (EPA, 1998). Los microorganismos mesofílicos colonizan nuevamente la composta al disminuir la temperatura en la fase conocida como curación. Las investigaciones realizadas para determinar la diversidad de microorganismos han identificado hongos mesofílicos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Cephalosporium*, *Mycotypha*, *Scopulariopsis*, *Aureobasidium*, *Alternaria* y *Epicoccum* durante la fase inicial. *Aureobasidium*, *Alternaria* y *Epicoccum* no sobreviven la fase termofílica ni recolonizan en la fase de curación (Taiwo y Oso, 2004).

De acuerdo a Bonito et al. (2010), las caracterizaciones de hongos durante el proceso de compostación del BMC no han sido claras en cuanto a la diversidad presente. Las compostas que no han completado alguna de las fases de curación por el periodo necesario están en riesgo de contener microorganismos patógenos (Guzmán y Campos, 2001). La Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) regula el control de patógenos en el BMC mediante pruebas requeridas para autorizar su uso. Estas pruebas son específicas para coliformes fecales y no evalúan otros microorganismos como hongos o bacterias patógenas a las plantas y al ser humano (Guzmán y Campos, 2001). Por esta razón, es necesario un monitoreo en la sucesión microbiana para deter-

minar el manejo efectivo y asegurar la calidad del producto (Ryckeboer et al., 2003). La diversidad de microorganismos en la composta incluye microorganismos con carácter supresivo. Su utilización como biocontrol está sujeta a los cambios en condiciones ambientales y en el periodo de compostaje adecuado (EPA, 1998), por lo que los mecanismos de supresión varían con el lote de composta.

El compostaje del biósolido se realiza con el propósito de ser utilizado como enmienda en los suelos agrícolas, por su alta capacidad de proveer nutrientes, mejorar la estructura del suelo y para la bioremediación (EPA, 1998). El BMC también ha sido estudiado para ser usado como un sustrato alternativo a la turba, siendo un componente en las mezclas de medios de cultivo (Cardona, 2008). Su uso ya ha sido adoptado por productores de plantas ornamentales en Puerto Rico, reduciendo así el uso de la turba y los costos de producción (Alvarado, 2006). Existe cierto escepticismo en algunas personas para utilizar este medio como sustrato en plantas ornamentales o como enmienda al suelo (EPA, 1999). Muchos productores piensan que puede ser nocivo a la salud. Por lo antes expuesto, el objetivo de este estudio fue identificar en el BMC la posible presencia de hongos que pueden ser nocivos a las plantas y a los seres humanos.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El BMC se obtuvo de la planta de composta de la Autoridad de Acueductos y Alcantarillados de Mayagüez, Puerto Rico. Las compostas varían según el lote de producción al cual pertenecen. Estas compostas cumplen con el periodo de compostación requerido por la Agencia de Protección Ambiental para autorizar su uso. Se caracterizaron hongos en cinco tratamientos de compostas y turba comercial. Las compostas varían de acuerdo al tiempo de compostación que posee su respectiva pila aerostática (las fechas indican el tiempo en el que cada pila completó el proceso de compostaje). Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: T1 (BMC- 18 noviembre 2009), T2 (BMC- 4 diciembre 2009) de los que se tomaron muestras el 19 febrero 2010; los tratamientos T3 (BMC- 29 octubre 2010) y T4 (BMC- 22 octubre 2010) se obtuvieron de la planta de composta el 11 febrero 2011. El tratamiento control, T5, contenía 100% de turba comercial (Pro-Moss TBK®) que se obtuvo de un paquete sellado. El diseño experimental fue uno de bloques aleatorizados en el cual cada tratamiento representaba un bloque. Se obtuvieron seis muestras de cada tratamiento, de las cuales se analizaron tres aislados en forma aleatorizada. De cada tratamiento se tomaron 10 g y se añadieron 90 ml de agua destilada estéril. La suspensión fue agitada por 15 minutos en un agitador mecánico para obtener el mayor

número de microorganismos en la misma. A partir de esta suspensión se realizaron diluciones en serie de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  de las que se extrajo 100  $\mu$ l que se transfirieron a placas Petri que contenían medio de cultivo OHIO (Dhingra y Sinclair, 1995). La dilución se esparció sobre el medio de cultivo en la placa Petri con un dispensador estéril sobre un plato giratorio. Se inocularon seis placas Petri por dilución. Se incubaron tres placas en posición invertida a cada una de las temperaturas de 28 y 45° C; temperaturas que se utilizan para el estudio de hongos mesofílicos y termofílicos, respectivamente. Las muestras incubadas se observaron diariamente por cinco a siete días. Se tomaron tres colonias al azar de cada placa Petri (Millner et al., 1977) que fueron transferidas a agar de papa y dextrosa (PDA o Potato Dextrose Agar, BD DIFCO™)<sup>6</sup> acidificado con 1 ml de ácido láctico al 25% por cada 500 ml. Se prepararon laminillas a partir de los cultivos puros para identificar mediante un microscopio las estructuras reproductivas de los hongos utilizando claves taxonómicas. Las medidas de los caracteres microscópicos fueron tomadas con un microscopio (Olimpus BH-2) con cámara spot (insaid) equipado para la técnica de Nomarsky, utilizado el programa SPOT Advanced. La clave utilizada para la identificación por género fue *Illustrated genera of imperfect fungi* (Barnett y Hunter, 1998). Se siguieron las especificaciones y recomendaciones indicadas en las claves taxonómicas para la identificación de especies de hongos. Las claves para los géneros de *Aspergillus* y *Penicillium* requieren el crecimiento de las colonias en los medios de cultivo CYA (Czapek Yeast Agar), CYA 20S (Czapek Yeast Agar+ 20 g sacarosa) MEA (Malt Extract Agar) y GN25 (Nitrato de Glicerol 25%). Se utilizó la carta de colores de Munsell (2000) para las características de color.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Crecimiento de hongos en agar OHIO*

Se observó crecimiento de hongos en todos los tratamientos de composta crecidos en medio agar OHIO a 28° C. A 45° C solamente se obtuvo crecimiento de bacterias en el BMC. Este resultado demuestra que los hongos termofílicos fueron eliminados del BMC durante el proceso de compostación a 45° C. La ausencia de hongos puede ser causada por crecimiento de bacterias termofílicas como lo es *Bacillus* spp. Este género ha sido identificado en el BMC (Cardona, 2004; Taiwo y Oso,

<sup>6</sup>Los nombres de compañías y de marcas registradas solo se utilizan para proveer información específica y su uso no constituye garantía por parte de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico, ni endoso sobre otros productos o equipo que no se mencionan.

2004). Estas bacterias poseen la capacidad de suprimir otros microorganismos como *Aspergillus fumigatus* (Agarry et al., 2005). Hongos tales como *A. fumigatus* Fresen y *Paecilomyces varioti* Bainier, termotolerantes y patógenos a los seres humanos, se encontraron en el tratamiento T5 (Cuadro 2). En este tratamiento no se observó la presencia de bacterias a 45° C.

En los tratamientos T1 y T2 se observó una mayor cantidad de colonias de hongos crecidas en medio OHIO al comparar con los tratamientos T3 y T4 (Cuadro 1). El análisis de varianza mostró diferencia significativa ( $p \leq 5$ ) en el tratamiento T2 al compararlo con los demás tratamientos en todas las diluciones. Los tratamientos T3 y T4 corresponden a lotes de composta obtenidos en 2011, un año más tarde que los de los tratamientos T1 y T2, y contaban con más días de almacenamiento en la planta de composta. Al momento de obtener las muestras los tratamientos T1 y T2 habían sido almacenados por 94 y 78 días, respectivamente, después de terminada su fase de compostación. Los tratamientos T3 y T4 habían sido almacenados por 106 y 113 días, respectivamente, al momento de obtener las muestras. En estos tratamientos se observaron muy pocas colonias de hongos diferentes por plato Petri. Las colonias más abundantes y con mayor número de aislados eran de color blanco y apariencia aterciopeladas (Figura 1). Estas colonias se identificaron como *Penicillium citreonigrum* Dierckx o similares a esta especie (Pitt, 1985).

En el tratamiento T3 se identificó el género *Scopulariopsis*, el cual es un poblador secundario de los sustratos ya que utiliza formas com-

CUADRO 1.—Colonias de hongos crecidas en medio OHIO después de siete días de incubación a 28 y 45° C. <sup>1</sup>

Tratamientos <sup>2</sup>	Diluciones			
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>
T1 BMC <sup>3</sup>	93 b <sup>4</sup>	58 a	21 a	15 a
T2 BMC <sup>3</sup>	TMC <sup>5</sup> c	146 b	62 b	34 b
T3 BMC <sup>3</sup>	105 b	35 a	21 a	3 a
T4 BMC <sup>3</sup>	78 ab	28 a	5 a	4 a
T5 Turba <sup>3</sup>	15 a	6 a	5 a	3 a
T5 Turba <sup>6</sup>	42	12	6	1

<sup>1</sup>Los valores de la cantidad de colonias son un promedio de tres placas Petri por tratamiento.

<sup>2</sup>Tratamientos T1 (18 de noviembre de 2009), T2 (4 de diciembre de 2009), T3 (29 de octubre 2010), T4 (22 de octubre de 2010) y T5 (100% de turba comercial, Pro-Moss TBK®)

<sup>3</sup>Incubados a 28° C

<sup>4</sup>Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>5</sup>TMC (too many to count)-demasiadas para contar

<sup>6</sup>Incubados a 45° C

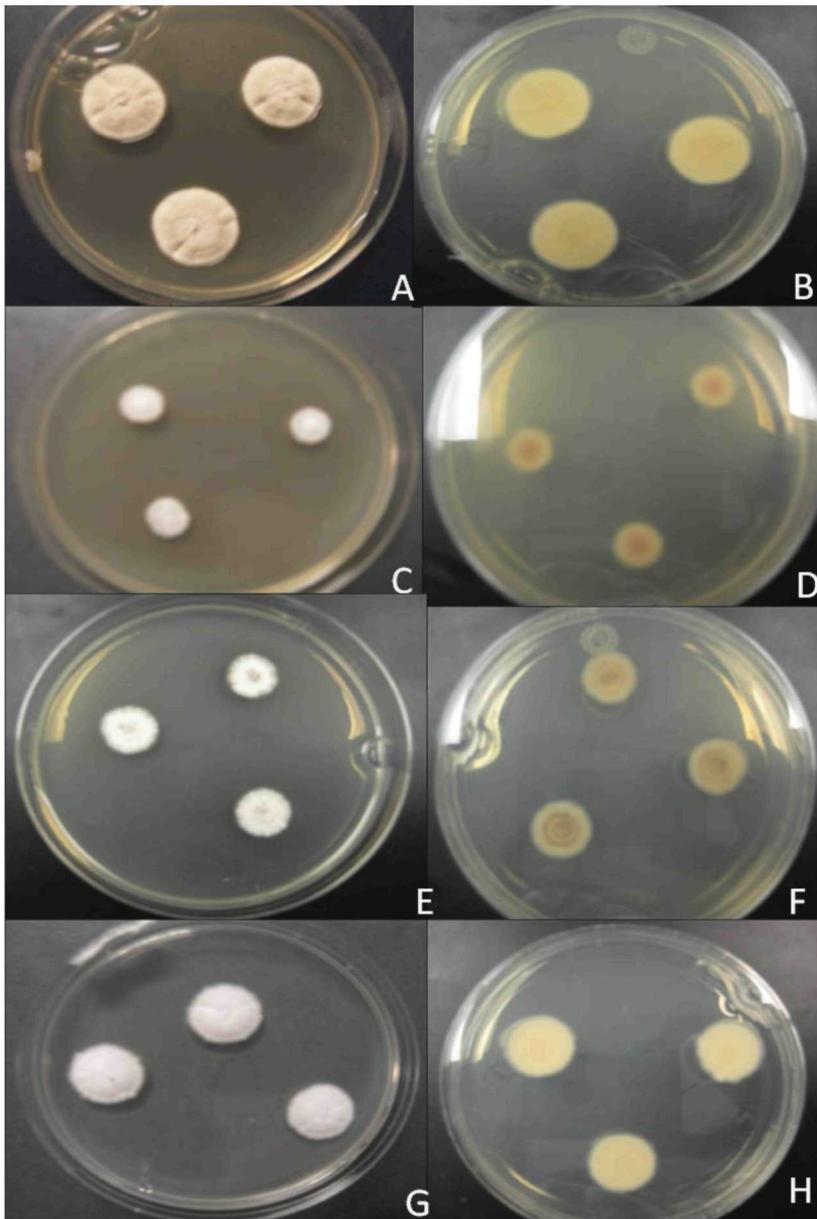


FIGURA 1. Crecimiento de las colonias de *Penicillium citreonigrum* en medios de cultivo utilizados para su identificación. A. Colonias en CYA 25; B. Reverso; C. Colonias en MEA; D. Reverso en MEA; E. Colonias en CYA 37; F. Reverso; G. Colonias en G25N; H. Reverso en G25N.

plejas de nitrógeno como fuente de alimento (Raper y Thom, 1968). Este hongo habita la composta luego que las poblaciones de *Penicillium* spp. han disminuido, completando el proceso de descomposición (Raper y Thom, 1968). Este hallazgo confirma el resultado encontrado en esta investigación sobre la ausencia de otros géneros de hongos en los tratamientos T3 y T4 al compararlos con los tratamientos T1 y T2 donde se encontró mayor diversidad de especies (Cuadro 2). Las compostas de los tratamientos T3 y T4 son sustratos con mayor tiempo de almacenamiento, por lo que la diversidad de hongos había disminuido. La diversidad de hongos en la composta es afectada por la disponibilidad de nutrientes en el sustrato, cada grupo de microorganismos en la composta utiliza los residuos orgánicos del grupo colonizador anterior completando la degradación del material compostado e influyendo en la diversidad de poblaciones según la fase de compostación (Taiwo y Oso, 2004).

CUADRO 2.—Cantidad de colonias de hongos identificados en los tratamientos de biosólido municipal compostado (BMC) y turba.

Especies de hongos	T 1 <sup>1</sup>	T 2	T 3	T 4	T 5	T 5 <sup>2</sup>
<i>Aspergillus caespitosus</i>	7	8	—	—	—	—
<i>A. candidus</i>	3	—	—	—	—	—
<i>A. flavus</i>	1	—	—	—	—	—
<i>A. fumigatus</i>	—	—	—	—	4	16
<i>Aspergillus</i> spp. M	—	2	—	—	—	—
<i>Conidiobolus heterospus</i>	2	—	—	—	—	—
<i>Curvularia lunata</i>	—	1	—	—	—	—
<i>Mucor mucedo</i>	—	1	2	—	—	—
<i>Paecilomyces varioti</i>	—	—	—	—	—	12
<i>Penicillium citreonigrum</i>	2	6	23	36	—	—
<i>Penicillium citrinum</i>	—	—	1	—	—	—
<i>Penicillium implicatum</i>	—	3	—	—	—	—
<i>Penicillium</i> spp. A	—	2	—	—	—	—
<i>Penicillium</i> spp. F	8	8	—	—	—	—
<i>Penicillium</i> spp. G	2	1	—	—	—	—
<i>Penicillium</i> spp. H	2	1	—	—	—	—
<i>Penicillium</i> spp. N	2	1	—	—	—	—
<i>Penicillium</i> spp. O	—	—	1	—	—	—
<i>Rhizopus</i> spp.	3	—	—	—	—	—
<i>Scopulariopsis</i>	—	—	1	—	2	—
<i>Trichoderma harzianum</i>	—	—	—	—	22	—

<sup>1</sup>Tratamientos T1, T2, T3 y T4 (BMC); T5 100% turba

<sup>2</sup>Crecidos a 45° C

— = 0 colonias

La disminución en la población y diversidad de hongos durante el proceso de maduración de la composta puede ser provocada por factores ambientales como los cambios en temperatura, pH, humedad y aireación, los cuales ocurren en la pila luego de finalizado el proceso de compostación. El contenido de cada lote de composta varía de acuerdo a los aditivos que se añaden a la mezcla de los lodos; estos aditivos suelen ser maderas trituradas y material vegetal. Como consecuencia del efecto de estos factores, la flora microbiana de cada lote de composta varía en diversidad de especies así como en los mecanismos de supresión de antagonistas contra microorganismos fitopatógenos (EPA, 1998).

Los resultados obtenidos en esta investigación en cuanto a la microflora de hongos, confirman que el tiempo en que la composta ha terminado su fase de curación es el momento óptimo para ser utilizada. En la fase de curación es donde se encuentra la mayor diversidad de hongos mesofílicos (Ryckeboer et al., 2003). En compostas en las que la fase de curación haya terminado iniciándose la maduración del sustrato, probablemente ocurra una reducción de hongos beneficiosos con capacidad antagonista, y estarán en riesgo de contaminarse con patógenos ambientales durante su almacenamiento. La presencia de *Scopulariopsis* en T3 confirma la presencia de hongos que podrían ser patógenos al recolonizar la composta del BMC en el periodo de maduración y almacenamiento.

### *Hongos encontrados en el BMC*

Los aislados de los hongos cigomicetos fueron más abundantes en los tratamientos T1 y T2 (Cuadro 2). En estudios previos se han identificado *Mucor* y *Rhizopus* en compostas, lo que coincide con lo encontrado en este estudio (Ryckeboer et al., 2003; Taiwo y Oso, 2004). Sin embargo, el género *Conidiobolus* Drechsler identificado en esta investigación no había sido informado en compostas analizadas en estudios previos. *Conidiobolus heterosporus* habita comúnmente el suelo y en desperdicios orgánicos en descomposición en regiones tropicales (Nelson et al., 1998). Este hongo ha sido reportado como flora microbiana del sistema digestivo de anfibios y reptiles (Nelson et al., 1998). Algunas especies de este género son patógenas a humanos y animales, causando alergias subcutáneas, no así la especie encontrada en este estudio (Kimura et al., 2011). Los cigomicetos identificados en esta investigación son hongos comunes del suelo y presentes en materia orgánica en descomposición, no han sido reportados como patógenos a las plantas ni a los seres humanos.

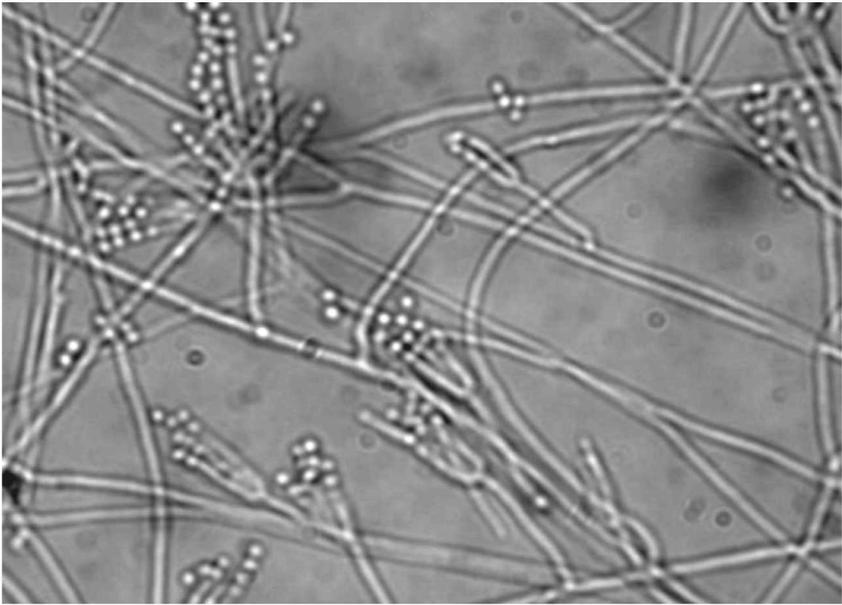


FIGURA 2. *Penicillium citreonigrum*, Conidióforo monoverticilado, 40x.

### *Penicillium* en el BMC

En todos los tratamientos con BMC se identificó el género *Penicillium* y la especie de *Penicillium citreonigrum* (Figuras 1 y 2). También se identificaron especies como similares a *Penicillium citreonigrum* en caracteres morfológicos. Esta especie es uno de los hongos con mayor número de aislados en el BMC, aunque no fue posible la identificación de algunas de las colonias, clasificándolas como especies similares. Esta condición es debida a la mutación ocasionada por las variaciones de temperatura y humedad que sufren estos microorganismos al crecer en medios de cultivo como en su ambiente natural bajo las condiciones de compostación (Raper y Thom, 1968). Los cambios más notables son en el color y textura de la colonia, así como en el radio de crecimiento (Raper y Thom, 1968). Estos hongos no identificados podrían ser especies nuevas no descritas. Las especies encontradas fueron clasificadas como similares a *P. citreonigrum* y *P. citrinum* con variaciones de color en la colonia y en el desarrollo de estas de acuerdo a las diferentes temperaturas en que fueron crecidas. *Penicillium citrinum* es descrita como una especie con una gran variedad de tonalidades, cambios en textura y modos de esporulación (Raper y Thom, 1968). Este hongo es

un promotor de crecimiento de plantas que coloniza rápidamente las raíces con un patrón similar al de las micorrizas (Khan et al., 2008). Otras especies de *Penicillium* identificadas fueron *P. citreonigrum* y *P. implicatum*. Estos poseen propiedades antifúngicas contra hongos patógenos como *Pythium vexans* Bary (Yamaji et al., 2005) y por la producción de micotoxinas como el citrin, frequentin y palitatin.

#### *Aspergillus en el BMC*

Las especies de *Aspergillus* identificadas en las compostas de los tratamientos T1 y T2 fueron: *A. caespitosus* Raper and Thom, *A. candidus* Link y *A. flavus* Link. *Aspergillus caespitosus* tiene potencial como hongo antagonista por la producción de metabolitos secundarios con propiedades antiparasíticas y antimicrobiales (Guimarães et al., 2006). Este hongo podría ser un excelente solubilizador del fósforo en el suelo por la producción de enzimas hidrolíticas. *Aspergillus candidus* es antagonista de *Phytophthora cinnamomi* Rands, fitopatógeno del aguacate, y estudios previos han demostrado sus efectos positivos en mejorar el estado de los sistemas radicales (Duvenhage, 1999). Esta especie posee capacidad supresiva contra *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. en combinación con la presencia de otros hongos como *A. niger* Van Tieghem y *Penicillium citrinum* (Ainbikopathy et al., 2002). *Aspergillus flavus* ha sido descrito como un promotor de crecimiento y con características antagonistas contra *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., un patógeno de la raíz de las leguminosas (Muhammad et al., 2010; Ullah et al., 2011). *Aspergillus flavus* es antagonista de *Rhizoctonia solani* (Naim y El-Esawy, 1964).

La diversidad de microorganismos de carácter antagonista encontrados en el BMC es un factor favorable para su uso como medio de cultivo y como enmienda a suelos agrícolas. Su uso como medio alternativo a la turba comercial presenta una alternativa contra microorganismos fitopatógenos importantes de los cultivos hortícolas como lo son *R. solani* y *P. vexans*. Estos son patógenos comunes que atacan plantas tanto en tiestos como en condiciones de campo. Se ha confirmado la capacidad de supresión del BMC sobre microorganismos patógenos como superior al compararla con la que pueda proveer la turba (EPA, 1998).

#### *Hongos patógenos encontrados en el BMC*

Los géneros de *Scopulariopsis* y *Curvularia* encontrados en los tratamientos de composta T3 y T2 pueden ser patogénicos. Las especies de *Scopulariopsis* spp. han sido reportadas en pacientes inmunocomprometidos causando enfermedades respiratorias y de la piel (Raper y Thom, 1968). La presencia de este hongo en el BMC está asociada al periodo de almacenamiento en el que el sustrato se encuentra expuesto

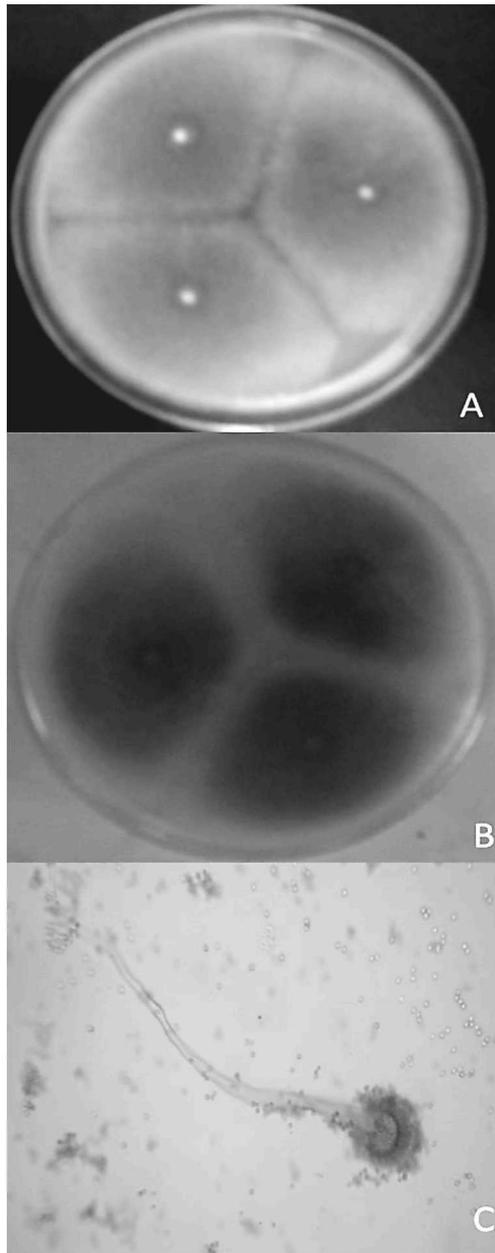


FIGURA 3. Colonias de *Aspergillus fumigatus*: A. Crecimiento en CYA 25; B. Reverso CYA 25; C. Conidióforo, 40 x.

a las condiciones ambientales. El género de *Curvularia* ha sido reportado como fitopatógeno de gramíneas en particular la especie de *C. lunata* (Wakker) Boedijn en los cultivos de arroz (Basha y Ulaganathan, 2002). La presencia de este hongo en el BMC puede ser explicada por el material vegetal y residuos de poda que se añaden a la composta. El efecto de patogenicidad de *Curvularia* es suprimido por la presencia de *Bacillus* en el BMC. *Bacillus* sp. es un agente controlador de *Curvularia* spp. por la producción de proteínas que provocan la lisis del micelio del hongo (Basha y Ulaganathan, 2002).

#### *Hongos encontrados en la turba*

En la turba se identificaron varios géneros de hongos comunes en el suelo y en sustratos en almacenamiento. Los géneros de hongos identificados fueron: *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis* y *Trichoderma*. Se ha reportado la presencia de *A. fumigatus* (Figura 3) y *Trichoderma* spp. en turba con más tiempo de maduración, mientras que *Penicillium* spp. aparece asociado a la turba joven (Airasksinen et al., 2005). En esta investigación las colonias de *Paecilomyces* spp. crecieron a temperaturas de 45° C, mientras que se observó crecimiento de *Aspergillus* spp. tanto a 28° C como a 45° C. *Aspergillus fumigatus* y *P. variotii* toleran temperaturas sobre los 55° C (Millner et al., 1977 y Raper y Thom, 1968). La presencia de estos hongos termotolerantes puede ser causada por el proceso de secado que recibe la turba el cual no alcanza las temperaturas de esterilización o pasteurización o bien por los microorganismos que se encuentran presentes en el ambiente de las plantas de procesamiento (Meriaux et al., 2006). Estudios previos han reportado la presencia de *A. fumigatus* en tiestos conteniendo medios de cultivo comerciales a base de turba y en plantas crecidas en condiciones de invernadero (Millner et al., 1977).

*Aspergillus fumigatus* ha sido reportado como patógeno y nocivo al ser humano, especialmente en pacientes inmunocomprometidos (Millner et al., 1997). Este hongo es comúnmente aislado de aspergilomas causando enfermedades respiratorias. También se caracteriza por producción de micotoxinas en granos almacenados (Klich, 2002). Otro hongo reportado con características similares a *A. fumigatus* es *P. variotii*, el cual es causante de micosis en el sistema respiratorio (Houbraken et al., 2010); también ha sido identificado como causante de alergias cutáneas (Raper y Thom, 1968). En aspectos agrícolas se describe como promotor de crecimiento del sistema radical en plantas como las leguminosas y antagonista de *M. phaseolina* (Muhammad et al., 2010).

En el tratamiento con turba, el hongo con el mayor número de aislados fue *Trichoderma* spp. seguido por *A. fumigatus*, encontrándose ambos en todas las diluciones. *Trichoderma* es conocido como antagonista

y promotor de crecimiento en plantas. En este estudio se identificó la especie de *T. harzianum* Rifai. Este hongo actúa como hiperparásito y se caracteriza por la producción de metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas contra los patógenos del suelo, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* (Ezziyani et al., 2004).

Se identificaron dos aislados de *Scopulariosis* spp. en el tratamiento T5, presentando coloración y apariencia distinta en la colonia (Raper y Thom, 1968). Este hallazgo compara con lo encontrado en el T3, donde fue identificado el género *Scopulariosis* spp., confirmando así la relación entre la presencia de ciertos hongos con el tiempo de maduración del sustrato y almacenaje.

### CONCLUSIONES

Los hongos encontrados en el BMC poseen características de antagonismo y promotores de crecimiento o solubilizadores. Estos corresponden a la flora normal de hongos mesófilos que colonizan la composta en el periodo de curación (Taiwo y Oso 2004). Con relación al contenido microbiológico de hongos, el BMC es un medio de cultivo viable y seguro para las plantas y los seres humanos que estén en contacto con el mismo. Este puede ser utilizado como un sustrato en la producción de plantas ornamentales y ser un medio alternativo a la turba. Sin embargo, se recomienda el uso de protección de las vías respiratorias especialmente a personas que sufren de alergias o con sistemas inmunológicos comprometidos y que estén en contacto con este sustrato.

Los hongos identificados en la turba son encontrados comúnmente en el suelo y en materia orgánica en estado maduro o durante el almacenamiento. La presencia de estos hongos en este sustrato no había sido reportada previamente. De este modo se confirma el contenido microbiológico de hongos en la turba; al compararlo con el del BMC ambos sustratos mostraron la presencia de hongos. Por esta razón, se recomienda tomar precauciones al momento de utilizar ambos sustratos. Luego de evaluar el contenido microbiano de estos dos sustratos, concluimos que es imperativo que se realicen estudios adicionales con sustratos orgánicos de diversas marcas registradas utilizadas en la producción comercial de cultivos.

### LITERATURA CITADA

- Alvarado, B. J., 2006. Análisis económico de medio orgánico como alternativa a las mezclas comerciales utilizando turba para la producción de plantas ornamentales en tiestos. Tesis, Departamento de Economía Agrícola, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez. pp 16-18.

- Agarry, O. O., F. A. Akinyosoye y F. C. Adetuyi, 2005. Antagonistic properties of microorganisms associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) products. *African Journal of Biotechnology* 4 (7): 627-632.
- Ainbikopathy, V., A. Panneerselvam y R. Saravanamuthu, 2002. Antagonistic effect of soil fungi to *Fusarium solani*. *Agriculture Science Digest* 22 (1): 14-17.
- Airaksinen, S., M. L. Heiskanen, H. Heinonen-Tanski, J. Laitinen, S. Laitinen, M. Linnainmaa y S. Rautiala, 2005. Variety in dustiness and hygiene quality of peat bedding. *Annals Agricultural Environmental Medicine* 12: 53-59.
- Barnett, H. L. y B. B. Hunter, 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. APS Press. Saint Paul, Minnesota.
- Basha, S. y K. Ulaganathan, 2002. Antagonism of *Bacillus* species (strain BC121) towards *Curvularia lunata*. *Current Science* 82(12): 1457-63.
- Bonito, G., O. S. Isikhuemhen y R. Vilgalys, 2010. Identification of fungi associated with municipal compost using DNA-based techniques. *Bioresource Technology* 101(3): 1021-1027.
- Cardona, L. I., 2008. Efectos del biosólido municipal compostado como medio de cultivo alternativo a la turba utilizado en la producción de pascuas (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). Tesis, Universidad de Puerto Rico-Recinto Universitario de Mayagüez, pp 38- 45.
- Dhingra, O. D. y J. B. Sinclair, 1995. Basic Plant Pathology Methods. Second Edition. Ed Lewis Publishers. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 434.
- Duvenhage, J. A., 1999. Biological and chemical control of root rot. South African Avocado Growers' Association 22:115-119.
- Environmental Protection Agency (EPA), 1998. An analysis of composting as an environmental remediation technology. Capítulos 1 y 5 : 1-3.
- Environmental Protection Agency (EPA), 1999. Biosolids generation, use, and disposal in the United States. Section 5.2.1 Public Acceptance. 69-73.
- Ezziyyani, M., C. Pérez-Sánchez, A. S. Ahmed, M. E. Requena y M. E. Candela, 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). *Anales de Biología* 26: 35-45.
- Guimarães, L. H., S. C. Peixoto-Nogueira, M. Michelin, A. C. Rizzatti, V. C. Sandrim, F. F. Zanoelo, A. C. Aquino, A. B. Junior y M. De L. Polizeli, 2006. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 474-480.
- Guzmán, C. y C. Campos, 2001. Indicadores de contaminación fecal en biosólidos aplicados en agricultura. Revista de la Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana 9: 59-67.
- Houbraken, J., P. E. Verweij, A. J. Rijs, A. M. Borman y R. A. Samson, 2010. Identification of *Paecilomyces variotii* in clinical samples and settings. *Journal of Clinical Microbiology* 48 (8): 2754-2761.
- Khan, S. A., M. Hamayun, H. Yoon, H. Y. Kim, S. J. Suh, S. K. Hwang, J. M. Kim, I. J. Lee, Y. S. Choo, U. H. Yoon, W. S. Kong, B. M. Lee y J. G. Kim, 2008. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. *BioMed Central Microbiology* 8: 231.
- Klich, M. A., 2002. Identification of Common Aspergillus Species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- Kimura, M., T. Yaguchi, D. A. Sutton, A. W. Fothergill, E. H. Thompson y B. L. Wickes, 2011. Disseminated human conidiobolomycosis due to *Conidiobolus lamprauges*. *Journal Clinical Microbiology* 49(2): 752-56.
- Meriaux, A., P. Pageau, Y. Cormier, N. Goyer y C. Duchaine, 2006. Bioaerosols in peat moss processing plants. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*. 3(8): 408-17.

- Millner, P. D., P. B. Marsh, R. B. Snowden y J. F. Parr, 1977. Occurrence of *Aspergillus fumigatus* during composting of sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology* 34 (6): 765-772.
- Muhammad, A., M. Waseem Abbasi y M. Javed Zaki, 2010. Bioefficacy of microbial antagonists against *Macrophomina phaseolina* on sunflower. *Pakistan Journal of Botany* 42(4): 2935-2940.
- Naim, M. S. y A. A. El-Esawy, 1964. Variations in the cultural characteristics of *Rhizoctonia solani*, and its antagonists: *Aspergillus terreus* and *Aspergillus flavus* occurring in the rhizosphere of cotton. *Mycopathologia* 27 (1-2): 161-168.
- Nelson, R. T., D. TeStrake y B. J. Cochrane, 1998. The distribution of *Basidiobolus* and *Conidiobolus* in soil and litter at sites near Tampa, Florida. *Mycologia* 90 (5): 761-766.
- Pitt, J. L., 1985. A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing.
- Raper, K. y C. Thom, 1968. A Manual of the Penicillia. Hafner Publishing Company.
- Rifai, M. A., 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers. 116. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Ryckeboer, J., J. Mergaert, J. Coosemans, K. Deprins y J. Swings, 2003. Microbiological aspects of biowaste during composting is monitored compost bin. *Journal of Applied Microbiology* 94: 127-137.
- Taiwo, L. B. y B. A. Oso, 2004. Influence of composting techniques on microbial succession, temperature and pH in a composting municipal solid waste. *African Journal of Biotechnology* 3 (4): 239-243.
- Ullah, M. H., M. Aslam, S. T. Sahi y A. Habib, 2011. Evaluation of antagonistic fungi against charcoal rot of sunflower caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *African Journal of Environmental Science and Technology* 5(8): 616-621.
- Yamaji K., Y. Hashidoko, Y. Fukushi y S. Tahara, 2005. Chemical Response of *Picea glehnii* seed-epiphytic *Penicillium* species to *Pythium vexans* under *in vitro* competitive conditions for mycelial growth. *Journal of Chemical Ecology* 31(4): 805-817.

