



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y**  
**AMBIENTALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**TEMA:**

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE**  
**EXTRACTOS DE HONGOS AISLADOS DE SUELOS DEL PÁRAMO**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título en Ingeniero en  
Biotecnología

**Línea de investigación: Salud y bienestar integral**

**AUTOR:**

Jhostin David Enríquez Pusedá

**DIRECTOR:**

Ing. Andrea Jazmin Chilinguina Quispe. MSc.

**Ibarra – Ecuador 2026**



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

### AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

#### 1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	0450075841		
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	ENRÍQUEZ PUSDÁ JHOSTIN DAVID		
<b>DIRECCIÓN:</b>	AVENIDA ANDRES BELLO Y SAN PABLO		
<b>EMAIL:</b>	jdenriquezp@utn.edu.ec		
<b>TELÉFONO FIJO:</b>	2598081	<b>TELÉFONO MÓVIL:</b>	0999261968

DATOS DE LA OBRA	
<b>TÍTULO:</b>	EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE EXTRACTOS DE HONGOS AISLADOS DE SUELOS DEL PÁRAMO
<b>AUTOR (ES):</b>	ENRÍQUEZ PUSDÁ JHOSTIN DAVID
<b>FECHA: DD/MM/AAAA</b>	02/03/2026
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> <b>PREGRADO</b> <input type="checkbox"/> <b>POSGRADO</b>
<b>TITULO POR EL QUE OPTA:</b>	INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA
<b>ASESOR /DIRECTOR:</b>	Ing. Andrea Chiliquinga. MSc.

#### 2. CONSTANCIAS

El autor (es) manifiesta (n) que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es (son) el (los) titular (es) de los derechos patrimoniales, por lo que asume (n) la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá (n) en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 02 días del mes de marzo de 2026.

#### EL AUTOR:

Nombre: Jhostin David Enríquez PUSDÁ



## **CERTIFICACIÓN DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTERGRACIÓN CURRICULAR**

Ibarra, 02 de Marzo de 2026

Ing. Andrea Jazmín Chilibuina Q. MSc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICA:

Haber revisado el presente informe final del trabajo de Integración Curricular, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Universidad Técnica del Norte; en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.

*(f)* .....

*Ing. Andrea Jazmín Chilibuina Q. MSc.*

*C.C.: 1720064193*

## **APROBACIÓN DEL COMITÉ CALIFICADOR**

El Comité Calificado del trabajo de Integración Curricular “**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE EXTRACTOS DE HONGOS AISLADOS DE SUELOS DEL PÁRAMO**” elaborado por Jhostin David Enríquez PUSDÁ, previo a la obtención del título del Ingeniero en Biotecnología, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Universidad Técnica del Norte:

(f):.....  
Ing. Andrea Jazmín Chilibingua Quispe. MSc.  
C.C 1720064193

(f):.....  
Ing. Tania Sulca. PhD.  
C.C 1719083717

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a la Universidad Técnica del Norte (UTN) por brindarme la formación académica, los recursos institucionales y el entorno necesario para desarrollar esta investigación, constituyendo el espacio donde crecí profesional y personalmente. A la MSc. Andrea Chiquinga, directora de esta tesis, expreso mi sincero reconocimiento por su orientación, exigencia académica y guía constante, que permitieron sostener el rigor metodológico y el enfoque científico del estudio. También a Mari Cevallos, técnica de laboratorio, le agradezco profundamente por su dedicación y acompañamiento durante mis pasantías, y por haberme enseñado con paciencia las habilidades prácticas fundamentales para desenvolverme en el laboratorio. A Carlita Sandoval, docente de varias materias a lo largo de la carrera, le extiendo un especial agradecimiento por el impacto significativo que tuvo en mi trayectoria universitaria, en donde me ayudo a aprender tanto a nivel académico como personal, más aún cuando enfrente dificultades en sus asignaturas. En mi corazón, agradezco a mis padres por ser un pilar esencial en mi vida; aunque hoy papá viva en nuestros recuerdos, sus valores, enseñanzas, apoyo y amor han acompañado cada paso de este proceso. A Dani, expreso mi gratitud por su confianza, su compañía constante y su apoyo incondicional, que representaron un sostén invaluable durante este proceso. Finalmente, reconozco a todas las personas y circunstancias que, de alguna manera, aportaron un granito de arena en la construcción de este logro.

.

## RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación evaluó la capacidad de crecimiento y el potencial bioactivo de hongos aislados de suelos del páramo mediante su adaptación a medios de cultivo líquidos y la obtención de extractos extracelulares para análisis antimicrobiano, se trabajó con ocho cepas pertenecientes a géneros como *Aspergillus*, *Microsporium*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Mucor*, las cuales fueron cultivadas durante veintiún días en Caldo Papa Dextrosa y Extracto de Malta para determinar su rendimiento de biomasa y su patrón de esporulación. Los resultados demostraron que el medio Caldo Papa Dextrosa generó el mayor rendimiento de biomasa seca, destacándose las cepas MP3 y PP3 con valores de 1.81 mg/mL y 1.28 mg/mL respectivamente, mientras que la esporulación no se comportó como un indicador confiable de adaptabilidad debido a patrones discordantes entre la producción de conidios y el crecimiento vegetativo, posteriormente se obtuvieron extractos extracelulares por filtración y concentración, los cuales fueron evaluados frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 1026 mediante difusión en agar, sin observarse formación de halos inhibitorios en concentraciones de 50 mg/mL y 100 mg/mL. Los hallazgos sugieren que bajo las condiciones experimentales los metabolitos extracelulares no presentan actividad antibacteriana y que la capacidad de crecimiento fúngico no implica necesariamente la síntesis de compuestos bioactivos. Esta investigación aporta datos relevantes sobre el desempeño fisiológico de hongos nativos del páramo en cultivos líquidos y sienta bases para la búsqueda futura de metabolitos intracelulares, fracciones apolares y estrategias de elicitación orientadas al descubrimiento de nuevos compuestos de interés biotecnológico.

**Palabras Clave:** Biomasa, hongos, páramo, esporulación, antibacteriana, medio líquido.

## ABSTRACT

This study evaluated the growth capacity and bioactive potential of fungi isolated from paramo soils by assessing their adaptation to liquid culture media and obtaining extracellular extracts for antimicrobial analysis. Eight fungal strains belonging to the genera *Aspergillus*, *Microsporum*, *Penicillium*, *Rhizopus*, and *Mucor* were cultivated for twenty-one days in Potato Dextrose Broth and Malt Extract to determine their biomass yield and sporulation patterns. The results showed that Potato Dextrose Broth produced the highest dry biomass yields, with strains MP3 and PP3 reaching 1.81 mg/mL and 1.28 mg/mL, respectively, while sporulation did not function as a reliable indicator of adaptability due to inconsistent patterns between conidia production and vegetative growth. Extracellular extracts were subsequently obtained through filtration and concentration and evaluated against *Staphylococcus aureus* ATCC 1026 using agar diffusion, with no inhibitory halos detected at concentrations of 50 mg/mL and 100 mg/mL. The findings suggest that under experimental conditions, extracellular metabolites do not exhibit antibacterial activity and that fungal growth capacity does not necessarily imply the synthesis of bioactive compounds. This research provides relevant data on the physiological performance of native páramo fungi in liquid cultures and lays the groundwork for future research into intracellular metabolites, nonpolar fractions, and elicitation strategies aimed at discovering new compounds of biotechnological interest.

**Keywords:** Biomass, fungi, paramo, sporulation, antibacterial, liquid medium.

## LISTA DE SIGLAS

**ANOVA:** Análisis de Varianza.

**ATCC:** American Type Culture Collection.

**C+:** Control positivo.

**C-:** Control negativo.

**CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria.

**EM:** Extracto de Malta.

**PDA:** Papa Dextrosa Agar.

**PDB:** Caldo Papa Dextrosa.

**psi:** Libras por pulgada cuadrada.

**rpm:** Revoluciones por minuto.

**UFC/mL:** Unidades Formadoras de Colonia por mililitro.

**UV:** Radiación Ultravioleta.

**°C:** Grados Celsius.

## CONTENIDO

CAPÍTULO I .....	1
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Planteamiento del Problema.....	1
1.2. Justificación .....	2
1.3. Objetivos .....	3
1.3.1. General.....	3
1.3.2. Específicos.....	3
1.4. Pregunta de investigación .....	3
CAPÍTULO II.....	4
2. MARCO TEÓRICO .....	4
2.1. Ecosistemas de páramo .....	4
2.1.1. <i>Características ecológicas y climáticas del páramo andino</i> .....	4
2.2. Diversidad fúngica en el páramo.....	5
2.2.1. <i>Clasificación y características generales de hongos aislados del páramo</i> .....	6
2.2.2. <i>Adaptaciones de los hongos a condiciones extremas del páramo</i> .....	6
2.2.3. <i>Potencial biotecnológico de los hongos: producción de metabolitos secundarios</i> .....	7
2.3. Metabolitos secundarios producidos por hongos.....	7
2.3.1. <i>Metabolitos con propiedades antimicrobianas</i> .....	7
2.3.2. <i>Factores que influyen en la producción de metabolitos antimicrobianos</i> .....	8
2.4. Cultivos de hongos.....	8
2.4.1. <i>Medios de cultivos</i> .....	8
2.4.2. <i>Cultivos líquidos estáticos o agitados.</i> .....	9
2.4.3. <i>Cultivos solidos</i> .....	10
2.5. Bacterias de importancia clínica .....	11
2.5.1. <i>Influencia de los metabolitos secundarios de hongos sobre bacterias</i> .....	11
2.5.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.6. Actividad antimicrobiana .....	12
2.6.1. <i>Métodos de extracción de metabolitos secundarios</i> .....	12
2.6.2. <i>Métodos de verificación de actividad antimicrobiana</i> .....	13
CAPÍTULO III .....	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	14
3.1. Descripción de la investigación.....	14

3.1.1.	<i>Diseño estadístico</i> .....	15
3.1.2.	<i>Descripción del área de estudio</i> .....	16
3.2.	<b>Establecimiento de medios de cultivo líquidos para el crecimiento de hongos</b> .....	17
3.2.1.	<i>Activación de cepas fúngicas</i> .....	17
3.2.2.	<i>Reactivación y mantenimiento de cepas fúngicas</i> .....	17
3.2.3.	<i>Cultivos líquidos</i> .....	17
3.2.4.	<i>Criterio de conteo</i> .....	18
3.2.6.	<i>Obtención de biomasa seca</i> .....	19
3.3.	<b>Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de hongos</b> .....	19
3.3.1.	<i>Obtención de extractos</i> .....	19
3.3.2.	<i>Inoculo bacteriano</i> .....	19
3.3.3.	<i>Pruebas antimicrobianas</i> .....	20
<b>CAPÍTULO IV</b> .....		21
4.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	21
4.1.	<b>Adaptación de hongos a medio de cultivo líquido</b> .....	21
4.1.1.	<i>Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa MP3 (Microsporium sp.)</i> .....	22
4.1.2.	<i>Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa MP1 (Microsporium sp.)</i> .....	25
4.1.3.	<i>Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa PP3 (Aspergillus sp.)</i> .....	26
4.1.4.	<i>Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa MP4 (Aspergillus sp.)</i> .....	28
4.1.5.	<i>Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa PQ1 (Aspergillus sp.)</i> .....	30
4.1.6.	<i>Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa PP2 (Penicillium griseofulvum.)</i> .....	32
4.1.7.	<i>Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa PP4 (Rhizopus sp.)</i> .....	34
4.1.8.	<i>Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa MQ1 (Mucor hiemalis)</i> .....	35
4.2.	<b>Influencia del medio de cultivo en la esporulación durante 21 días de cultivo</b> .....	37
4.2.1.	<i>Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa MP3 (Microsporium sp.)</i> .....	37
4.2.2.	<i>Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa MP1 (Microsporium sp.)</i> .....	39

4.2.3. <i>Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa PP3 (Aspergillus sp.)</i> .....	41
4.2.4. <i>Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa MP4 (Aspergillus sp.)</i> .....	43
4.2.5. <i>Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa PQ1 (Aspergillus sp.)</i> .....	45
4.2.6. <i>Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa PP2 (Penicillium griseofulvum)</i> .....	46
4.2.7. <i>Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa PP4 (Rhizopus sp.)</i> .....	48
4.2.8. <i>Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa MQ1 (Mucor hiemalis)</i> .....	50
4.3. Pruebas antimicrobianas con extractos de hongos del páramo .....	52
4.3.1. <i>Pruebas antimicrobianas con extracto de la cepa PP3 (Aspergillus sp.)</i> .....	52
4.3.2. <i>Pruebas antimicrobianas con extracto de la cepa MP3 (Microsporium sp.)</i> .....	54
CAPITULO V .....	56
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	56
5.1. Conclusiones .....	56
5.2. Recomendaciones .....	56
6. Referencias .....	58
7. Anexos.....	69
7.1. Anexo 1. Prueba de Tukey realizada en el software estadístico InfoStat .....	69

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Celdas de conteo en cámara de Neubauer. ....	18
<b>Figura 2.</b> Distribución de pocillos en caja Petri para evaluación de efectividad antimicrobiana de los extractos extracelulares de los hongos PP3 ( <i>Aspergillus</i> sp.) y MP3 ( <i>Microsporium</i> sp.). ....	20
<b>Figura 3.</b> Producción de Biomasa (mg/mL) en cultivos líquidos de hongos aislados del páramo cultivados en medios líquidos PDB y EM. ....	22
<b>Figura 4.</b> Esporulación de la cepa MP3 a lo largo de 21 días. ....	39
<b>Figura 5.</b> Esporulación de la cepa MP1 a lo largo de 21 días. ....	41
<b>Figura 6.</b> Esporulación de la cepa PP3 a lo largo de 21 días. ....	43
<b>Figura 7.</b> Esporulación de la cepa MP4 a lo largo de 21 días. ....	44
<b>Figura 8.</b> Esporulación de la cepa PQ1 a lo largo de 21 días. ....	46
<b>Figura 9.</b> Esporulación de la cepa PP2 a lo largo de 21 días. ....	48
<b>Figura 10.</b> Esporulación de la cepa PP4 a lo largo de 21 días. ....	50
<b>Figura 11.</b> Esporulación de la cepa MQ1 a lo largo de 21 días. ....	52
<b>Figura 12.</b> Dilución en pocillos de extracto extracelular de la cepa PP3. ....	54
<b>Figura 13.</b> Dilución en pocillos de extracto extracelular de la cepa MP3. ....	55

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Lista de cepas fúngicas aislada del páramo clasificadas en filo, género y especie. ....	14
<b>Tabla 2.</b> Tratamientos empleados en la evaluación de la producción de biomasa. ....	15
<b>Tabla 3.</b> Tratamientos empleados en la evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos extracelulares de los hongos PP3 ( <i>Aspergillus</i> sp.) y MP3 ( <i>Microsporium</i> sp.). ....	16
<b>Tabla 4.</b> Estructuras miceliales de la cepa MP3( <i>Microsporium</i> sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo. ....	24
<b>Tabla 5.</b> Estructuras miceliales de la cepa MP1( <i>Microsporium</i> sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo. ....	26
<b>Tabla 6.</b> Estructuras miceliales de la cepa PP3 ( <i>Aspergillus</i> sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo. ....	28
<b>Tabla 7.</b> Estructuras miceliales de la cepa MP4 ( <i>Aspergillus</i> sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo. ....	30
<b>Tabla 8.</b> Estructuras miceliales de la cepa PQ1 ( <i>Aspergillus</i> sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo. ....	32
<b>Tabla 9.</b> Estructuras miceliales de la cepa PP2 ( <i>Penicillium</i> griseofulvum) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo. ....	33
<b>Tabla 10.</b> Estructuras miceliales de la cepa PP4 ( <i>Rhizopus</i> sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo. ....	35
<b>Tabla 11.</b> Estructuras miceliales de la cepa MQ1 ( <i>Mucor</i> hiemalis) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo. ....	36

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Planteamiento del Problema

Los hongos aislados de suelos del páramo podrían albergar compuestos con propiedades antimicrobianas, convirtiéndose en una valiosa alternativa natural para el desarrollo de nuevos agentes bioactivos (Ocampo, 2011).

Los páramos andinos, ubicados a altitudes superiores a los 3,000 metros sobre el nivel del mar (msnm), constituyen ecosistemas singulares caracterizados por condiciones climáticas extremas, como bajas temperaturas, elevada radiación ultravioleta y suelos ácidos con escasa disponibilidad de nutrientes (Balla, 2024). Estas condiciones han favorecido el desarrollo de una biodiversidad única, con adaptaciones morfológicas y fisiológicas especiales en los organismos que habitan estos entornos. Sin embargo, la diversidad microbiana, en particular la diversidad fúngica, ha sido escasamente estudiada debido a la limitada accesibilidad a estas zonas y a la dificultad de cultivo de estos microorganismos por la sensibilidad ante microorganismos oportunistas y la complejidad de replicar su sustrato natural (Gaitan, 2018; Vilema, 2021). Un estudio realizado en la Reserva Natural de Quimsacocha, ubicada entre 3040 y 3960 msnm en el oeste de los Andes, en Ecuador, identificó 370 variantes de secuencias de amplicones fúngicas aisladas de muestras del suelo mediante Metabarcoding, con predominancia de los filos Ascomycota, Mortierellomycota y Basidiomycota, lo cual evidencia una notable diversidad fúngica en los suelos de páramo (Delgado-Fernández et al., 2024).

Los hongos se han destacado como fuente crucial de antimicrobianos, siendo su mayor contribución la Penicilina descubierta por Fleming en el año 1928, sin embargo, a pesar de su importancia histórica en el desarrollo de fármacos antimicrobianos, la investigación sobre nuevas moléculas provenientes de hongos ha disminuido significativamente en las últimas décadas (Alharbi et al., 2014). Actualmente, la mayoría de los antibióticos disponibles en el mercado son modificaciones estructurales de compuestos preexistentes, como es el caso de la meticilina, siendo un antibiótico semisintético modificado a partir de la penicilina natural y destacado por su resistencia a la penicilinasas producidas por *Staphylococcus Aureus* (Correia et al., 2023). Este enfoque ha sido adoptado por la industria farmacéutica debido a que

modificar antibióticos ya conocidos es más asequible económicamente y menos riesgoso a nivel técnico que invertir en la búsqueda y desarrollo de nuevas moléculas con actividad antimicrobiana (Sánchez de Rivas, 2006).

Los hongos constituyen una fuente relevante de metabolitos secundarios con potencial actividad antimicrobiana, especialmente aquellos que se desarrollan en ambientes extremos como el páramo andino, en donde las condiciones ecológicas favorecen la producción de compuestos bioactivos únicos (Gaitan, 2018). Hongos endófitos aislados de frailejón (*Espeletia argentea*), presentan una actividad antimicrobiana significativa frente a fitopatógenos como *Fusarium keratoplasticum* y *Phytophthora infestans* (Vergara, 2024).

En este sentido, la exploración de hongos provenientes de nichos poco estudiados se perfila como una estrategia prometedora para la identificación de nuevos compuestos antimicrobianos, ampliando el conocimiento sobre su diversidad metabólica y su potencial aplicación biotecnológica (Fajardo et al., 2013; Robinson et al., 2023).

## **1.2. Justificación**

Los hongos, particularmente aquellos adaptados a condiciones extremas como las del páramo andino, han emergido como una fuente potencialmente rica y aún subexplotada de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas frente a una amplia variedad de patógenos, incluidos microorganismos resistentes a múltiples fármacos, lo que los posiciona como candidatos prometedores para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos (Arias & Piñeros, 2008; Ttacca et al., 2024). La singularidad de los ecosistemas del páramo, favorece la producción de compuestos bioactivos únicos, lo que incrementa el interés científico en la exploración de su diversidad fúngica y de su potencial biotecnológico (Gómez, 2011).

Además, los metabolitos derivados de hongos presentan ventajas potenciales, como una mayor especificidad de acción, una menor probabilidad de inducir resistencia y una mayor eficacia frente a bacterias patógenas, lo que resalta su relevancia en el contexto actual de la investigación antimicrobiana (Correia et al., 2023).

Por el antecedente descrito, es necesario realizar investigaciones orientadas a la identificación, aislamiento y caracterización de hongos asociados a ecosistemas de páramo andino, con el fin de evaluar su potencial como fuente de nuevos metabolitos antimicrobianos.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. General**

- Evaluar la actividad antimicrobiana de extractos de hongos aislados de suelos del páramo.

#### **1.3.2. Específicos**

- Establecer medios de cultivo líquidos para el crecimiento de hongos.
- Estimar la actividad antibacteriana de los extractos de hongos.

### **1.4. Pregunta de investigación**

- ¿Los extractos de hongos aislados del páramo tienen potencial antimicrobiano?

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

La evaluación de compuestos antimicrobianos derivados de hongos constituye una alternativa prometedora frente a patógenos clínicos, especialmente al considerar especies fúngicas aisladas de ecosistemas únicos como el páramo andino (Bernal Lozano, 2021).

#### 2.1. Ecosistemas de páramo

Los ecosistemas de alta humedad, como el páramo andino, se desarrollan entre los 3200 y 4700 metros sobre el nivel del mar y se caracterizan por condiciones climáticas rigurosas, con temperaturas bajas, elevada radiación ultravioleta, alta pluviosidad y suelos permanentemente saturados, estos últimos formados a partir de ceniza volcánica, con alta capacidad de retención de agua (Buytaert et al., 2006).

Estas propiedades físicas y químicas, junto con el estrés ambiental propio del ecosistema, promueven una microbiota edáfica altamente especializada. Estudios recientes indican que los Andisoles del páramo actúan como reservorios potenciales de microorganismos con características metabólicas únicas, incluyendo hongos con capacidad de producir compuestos bioactivos de interés biotecnológico (Nasamuez, 2024). La adaptación de estos microorganismos a condiciones extremas sugiere un alto potencial para la exploración de nuevas moléculas con aplicaciones antimicrobianas, antioxidantes y en otras áreas de la bioprospección.

##### 2.1.1. *Características ecológicas y climáticas del páramo andino*

Se caracteriza por condiciones climáticas extremas y formas de vida notables. En estos ecosistemas, el clima es frío y húmedo, con temperaturas anuales promedio de entre 2-10 grados Celsius, precipitaciones que superan los 2000 mm por año, neblina y lloviznas. La alta humedad relativa, junto con estos factores, contribuye a la formación de suelos jóvenes, ácidos y ricos en materia orgánica como los Andisoles, que tienen la capacidad de retener agua (Suqui et al., 2021). Este conjunto de factores da lugar a un entorno óptimo para una diversa vida microbiana, incluyendo hongos extremos y adaptadores bacterianos que

prosperan en duras condiciones montañosas, lo que los convierte en un fuerte candidato de compuestos bioactivos de interés biotecnológico.

## **2.2. Diversidad fúngica en el páramo**

El hallazgo más reciente sobre la diversidad fúngica presente en los ecosistemas de páramo, considerados únicos a nivel mundial por su altitud, variabilidad térmica y suelos ricos en materia orgánica, ha puesto a Colombia en la mira. En los páramos de Santa Inés y Frontino-Urrao, en el departamento de Antioquia, investigadores identificaron en la rizosfera de *Espeletia* sp. la presencia de hongos filamentosos, levaduras y bacterias del género *Nocardia*, organismos capaces de disolver fosfatos y degradar celulosa, lo que a su vez influye en la dinámica y circulación de nutrientes en el suelo (Fernández & Román, 2022). Los hongos desempeñan un rol fundamental en los ciclos biogeoquímicos, al participar activamente en la descomposición de materia orgánica y en la transformación de compuestos esenciales como azufrados, nitrogenados y fosforados.

Estas actividades metabólicas influyen directamente en la disponibilidad de nutrientes, la estructura del suelo y su fertilidad, factores clave para el desarrollo de la vegetación y el rendimiento de los cultivos. Además, la radiación solar actúa como un modulador ambiental importante en estos procesos, al incidir sobre la dinámica microbiana y la actividad enzimática del suelo.

Por otro lado, la microbiota presente en ecosistemas de alta montaña, como el páramo andino, presenta una notable diversidad funcional y metabólica, con especies que producen metabolitos secundarios de interés farmacológico, particularmente por su actividad antimicrobiana. En este contexto, la investigación de cepas fúngicas nativas no solo contribuye a la comprensión ecológica y conservación de estos ecosistemas frágiles, sino que también representa una oportunidad para el desarrollo de aplicaciones biotecnológicas innovadoras en áreas como la medicina, la agricultura y la industria ambiental (Fernández & Román, 2022).

En Ecuador, en el páramo Cayambe – Coca, Farinango & López (2022) bajo el proyecto de investigación BIOGEEC realizaron el muestreo de suelo prístino, en donde aislaron especies bacterianas y fúngicas. Estos muestreos arrojaron una diversidad de 8 cepas fúngicas nativas

correspondientes a 5 géneros distintos, comprendidos por *Aspergillus*, *Microsporium*, *Penicillium*, *Mucor* y *Rhizopus*. Posteriormente se identificó molecularmente dos de las cepas aisladas con anterioridad, la cepa MQ1 como *Mucor hiemalis* y PP2 como *Penicillium griseofulvum*.

### **2.2.1. Clasificación y características generales de hongos aislados del páramo**

Los hongos aislados de los suelos de la región del páramo se localizan principalmente en los filos Ascomycota y Basidiomycota con géneros como *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cladosporium* y *Aspergillus* que son conocidos junto con su papel en la descomposición de materia orgánica y la biosíntesis de metabolitos secundarios (Albán, 2024). Estos hongos poseen estructuras filamentosas (hifas) y son capaces de reproducción tanto sexual como asexual a través de esporas capaces de soportar bajas temperaturas, radiación ultravioleta extrema y suelos ácidos.

Su formación de asociaciones simbióticas como micorrizas también les permite sobrevivir en condiciones de nutrientes adversas y realizar funciones ecológicas esenciales como el ciclo de nutrientes y el crecimiento de plantas, esta identificación taxonómica de hongos se ha visto mejorada por técnicas moleculares como la secuenciación de ADN ribosómico, que ayuda en la identificación de nuevas especies con potencial biotecnológico (Redrado et al., 2023).

### **2.2.2. Adaptaciones de los hongos a condiciones extremas del páramo**

Los organismos fúngicos de los ecosistemas de páramo presentan características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que les permiten adaptarse a condiciones ambientales extremas, tales como temperatura baja, suelos ácidos, alta radiación UV y escasa concentración de nutrientes. Algunas de estas adaptaciones se incluyen en la formación de las esporas pigmentadas resistentes a desecamiento y radiación que pueden crecer a temperaturas cercanas a 0 °C o por debajo de ella, por lo que muchas de estas especies se consideran psicrófilas o psicrotolerantes (Zafra & Rangel, 2022).

Además, algunos hongos de *Chusquea subtessellata* han mostrado cambios en su metabolismo secundario por lesiones térmicas, evidenciando su capacidad de respuesta adaptativa al estrés ambiental (Alfaro, 2023). La formación de asociaciones simbióticas

como líquenes o micorrizas también constituye una estrategia clave de adaptación que tolera suelos altamente alterados y ácidos, pues facilitan el acceso a los nutrientes (González, 2024), estas adaptaciones hacen que estos hongos sean poco comunes, incrementando así la diversidad genética con potencial biotecnológico.

### ***2.2.3. Potencial biotecnológico de los hongos: producción de metabolitos secundarios***

Los hongos aislados de ecosistemas de páramo son capaces de producir metabolitos secundarios con alto valor biotecnológico, como antibióticos, enzimas y compuestos antifúngicos (Córdova, 2022). Géneros como *Penicillium* y *Aspergillus*, así como *Trichoderma*, han demostrado producir sustancias biológicas activas como alcaloides y terpenoides, que tienen aplicaciones medicinales y agrícolas (Arapa, 2023). Se sabe que estas moléculas, que se sintetizan en respuesta a factores ambientales adversos, también han demostrado actividad contra bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, reforzando así la hipótesis de su valor como agentes antimicrobianos de reserva natural (Arapa, 2023).

## **2.3. Metabolitos secundarios producidos por hongos**

La capacidad de los hongos para producir una amplia gama de metabolitos secundarios con aplicación en medicina, agricultura e industria es bien conocida, estos compuestos incluyen alcaloides, terpenoides, poliquetidas y compuestos fenólicos, que desempeñan funciones críticas en la defensa del organismo fúngico e interactuando con su entorno. Además, se han descubierto algunos hongos como fuentes de compuestos bioactivos con potencial fitofarmacéutico que incluyen alcaloides y terpenoides antimicrobianos y anticancerígenos. Las diversas propiedades estructurales y funcionales de estos metabolitos secundarios destacan el gran potencial de los hongos como recursos invaluable para el desarrollo de nuevos productos biotecnológicos (Kanazawa, 2024).

### ***2.3.1. Metabolitos con propiedades antimicrobianas***

Los hongos son capaces de producir una amplia gama de metabolitos secundarios con actividades biológicas, como los antibióticos penicilina, griseofulvina y la gliotoxina, todos ellos con actividad antibacteriana y antifúngica (Rodríguez, 2021). El hongo, que se

considera esporófico, elabora estos metabolitos en la fase estacionaria de crecimiento o idiofase que, por razones de tipo ambiental y lo que el sustrato con el que se fecunda es escaso, varia. Al igual que otros organismos, los hongos, que se desarrollan en simbiosis con las plantas, son famosos por elaborar diversos compuestos de naturaleza bioactiva que poseen propiedades farmacognósicas lo que subraya la importancia en el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos (Delgado & Gutiérrez, 2022).

### ***2.3.2. Factores que influyen en la producción de metabolitos antimicrobianos***

Diversos factores fisicoquímicos y de nutrición afectan crucialmente a la producción de metabolitos antimicrobianos por hongos (Gutiérrez et al., 2000) tales como: la fuente de carbono y nitrógeno y su concentración, el pH, temperatura, aireación y tiempo de incubación. Además, gran parte de estos compuestos se elaboran durante la idiofase del crecimiento microbiano captando en el cual el metabolismo secundario se activa como un mecanismo de defensa por competencia ecológica (Jiménez et al., 2023).

## **2.4. Cultivos de hongos**

### ***2.4.1. Medios de cultivos***

Los medios de cultivo desempeñan un papel fundamental en el crecimiento, metabolismo y diferenciación reproductiva de los hongos filamentosos, ya que su composición química determina la disponibilidad de fuentes de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales esenciales. Medios como Caldo Papa Dextrosa – Potato Dextrose Broth (PDB) y Extracto de Malta – Malt Extract (EM) son ampliamente utilizados en cultivos de hongos debido a su capacidad para sostener el desarrollo micelial (ATCC, 2023). Mientras que PDB se caracteriza por su alto contenido de carbohidratos simples fácilmente asimilables, EM aporta una mezcla más compleja de azúcares, péptidos y compuestos nitrogenados, lo que puede generar respuestas metabólicas diferenciadas entre cepas y especies (Pitt & Hocking, 2022).

**Tabla 1.**

*Composición química de los medios de cultivo PDB (Caldo Papa Dextrosa) y EM (Extracto de Malta)*

<b>Característica</b>	<b>PDB (Caldo Papa Dextrosa)</b>	<b>EM (Extracto de Malta)</b>
<b>Fuente principal de carbono</b>	Glucosa (dextrosa)	Maltosa, dextrinas y polisacáridos
<b>Concentración total de carbono</b>	~20 g/L (glucosa) + sólidos solubles de papa	~14–18 g/L (carbohidratos totales del extracto)
<b>Fuente de nitrógeno</b>	Trazas de compuestos nitrogenados provenientes del extracto de papa	Proteínas, péptidos y aminoácidos del extracto de malta
<b>Concentración de nitrógeno</b>	Muy baja (no definida, en trazas)	~1–2 g/L (nitrógeno orgánico total)
<b>Vitaminas</b>	Trazas (principalmente vitaminas hidrosolubles)	Vitaminas del complejo B
<b>Minerales</b>	K, P, Mg en bajas concentraciones	K, Mg, P y otros oligoelementos

**Nota:** Información recopilada de las siguientes fuentes (ATCC, 2023; Atlas, 2010; TM, 2019).

#### **2.4.2. Cultivos líquidos estáticos o agitados.**

En el cultivo de hongos mediante medios líquidos, se distinguen dos enfoques principales: cultivos estáticos y cultivos agitados. Ambos presentan características particulares que responden a diferentes objetivos productivos y experimentales.

Los cultivos líquidos estáticos se caracterizan por la ausencia de agitación, permitiendo el desarrollo del micelio principalmente en la superficie del medio. Este sistema presenta una implementación sencilla, costos operativos bajos y una infraestructura mínima, por lo que resulta adecuado en estudios preliminares, ensayos exploratorios o en la producción a pequeña escala de biomasa fúngica (Montalba, 2022). No obstante, las condiciones que impone la falta de agitación generan una distribución heterogénea de nutrientes, oxígeno y demás factores esenciales para el crecimiento fúngico, lo cual puede afectar negativamente

la velocidad de desarrollo, la uniformidad del micelio y la producción de metabolitos secundarios (Laura & Castellanos, 2009). A pesar de estas limitaciones, este tipo de cultivo sigue siendo útil para estudiar interacciones específicas entre el hongo y el sustrato o para trabajar con especies que no toleran condiciones dinámicas (Alhaidari, 2013).

Por otro lado, los cultivos líquidos agitados utilizan sistemas mecánicos o magnéticos que mantienen el medio en movimiento constante. Esta agitación favorece una mayor transferencia de masa, mejora la oxigenación y asegura una distribución homogénea de nutrientes en todo el sistema, lo que se traduce en tasas de crecimiento micelial más elevadas y en un incremento en la producción de biomasa y metabolitos bioactivos (Jara, 2011). Como resultado, este tipo de cultivo es ampliamente empleado en procesos a escala industrial y en especies estrictamente aeróbicas que requieren una disponibilidad continua de oxígeno. Sin embargo, estos sistemas también presentan ciertos desafíos, como el requerimiento de equipos especializados y el riesgo de daño físico al micelio debido a la fuerza de cizallamiento generada por la agitación, lo que puede afectar la integridad estructural del organismo.

### ***2.4.3. Cultivos sólidos***

Los cultivos en estado sólido constituyen procesos biotecnológicos en los que los hongos crecen sobre sustratos sólidos con bajo contenido o ausencia de agua libre. Este tipo de cultivo es particularmente adecuado para hongos filamentosos, ya que simula las condiciones naturales de su hábitat, favoreciendo una extensa colonización del micelio en el sustrato. Entre las principales ventajas del cultivo en estado sólido se destacan el aprovechamiento de residuos agroindustriales de bajo costo como sustratos, el reducido consumo de agua y energía, así como una menor incidencia de contaminación bacteriana debido a la limitada disponibilidad de agua (Mendoza & Nélica, 2024). No obstante, este sistema también presenta desafíos importantes, como la dificultad para controlar parámetros críticos como la temperatura y la humedad, además de limitaciones en cuanto a la escalabilidad y automatización del proceso.

## **2.5. Bacterias de importancia clínica**

Las bacterias de importancia clínica comprenden un conjunto de microorganismos capaces de causar infecciones en el ser humano, tanto en la comunidad como en entornos hospitalarios (García & Díaz, 2023). Su estudio es fundamental en microbiología médica debido al impacto que tienen sobre la salud pública y la necesidad constante de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas (Bennett & Chung, 2001). Estas bacterias pueden involucrarse en patologías que van desde infecciones leves hasta cuadros sistémicos severos, y muchas de ellas han desarrollado mecanismos de evasión y resistencia a los tratamientos convencionales (Alharbi et al., 2014). En este contexto, el uso de cepas de referencia sensibles a antibióticos en ensayos preliminares permite evaluar la actividad de nuevos compuestos antimicrobianos.

### ***2.5.1. Influencia de los metabolitos secundarios de hongos sobre bacterias***

Los metabolitos secundarios producidos por hongos juegan un papel vital en la supresión de bacterias patógenas, especialmente en el contexto de la creciente resistencia a los antibióticos convencionales (Miranda, 2024), estos compuestos, que incluyen alcaloides, terpenoides y poliquetidos, han demostrado una notable actividad antibacteriana contra cepas como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Según Tacca et al., (2022) el hongo *Aspergillus versicolor* produce metabolitos que poseen propiedades antibacterianas, fungicidas e incluso citotóxicas, lo que subraya el valor terapéutico del hongo. Además, se ha encontrado que los hongos sirven como fuentes de compuestos bioactivos con potencial farmacológico, tales como alcaloides y terpenos antimicrobianos y anticancerígenos.

### ***2.5.2. Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram positiva de morfología coccide que suele disponerse en agrupaciones semejantes a racimos. Este microorganismo es ampliamente reconocido por su capacidad patogénica, la cual se sustenta en un variado arsenal de factores de virulencia, como la producción de exotoxinas, la formación de biopelículas y la expresión de enzimas que le permiten adherirse a diversas superficies, evadir la respuesta inmunológica del huésped e invadir tejidos (Chambers & DeLeo, 2009). Además de su virulencia, *S. aureus* presenta una notable capacidad para desarrollar resistencia a múltiples fármacos antimicrobianos.

La resistencia a la meticilina es uno de los mecanismos más conocidos de resistencia a fármacos, esta genera cepas denominadas SARM (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina). Esta resistencia se debe a la adquisición del gen *mecA*, el cual codifica una proteína de unión a penicilina (PBP2a) con baja afinidad por los antibióticos  $\beta$ -lactámicos (Franklin, 2025). La presencia de este mecanismo complica significativamente el tratamiento de infecciones estafilocócicas, representando una amenaza creciente para la salud pública a nivel mundial (Salvador, 2021).

## **2.6. Actividad antimicrobiana**

La actividad antimicrobiana se define como el uso o aplicación de una cierta sustancia que puede inhibir el crecimiento o eliminar microorganismos patógenos como bacterias, hongos y virus (Guerrero & Quinteros, 2022). En la biotecnología, se ha registrado que los metabolitos secundarios producidos por hongos son útiles en la producción de compuestos con propiedades antimicrobianas. Por ejemplo, algunos investigadores han encontrado que algunos hongos aislados de plantas como *Espeletia Argentea* producen metabolitos con actividades antimicrobianas significativas, especialmente contra patógenos que son resistentes a otros antibióticos (Vergara, 2024).

Además, según Aguila et al., (2025) se ha demostrado que algunos metabolitos secundarios de *Aspergillus fumigatus* tienen actividades antimicrobianas efectivas contra cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, destacando la importancia de los hongos como fuente de metabolitos con efectos antimicrobianos.

### **2.6.1. Métodos de extracción de metabolitos secundarios**

La extracción de metabolitos secundarios de hongos es uno de los primeros pasos en el estudio de sustancias bioactivas con posible aplicación terapéutica. Algunos de los métodos incluyen maceración, extracción Soxhlet y percolación. La maceración se realiza sumergiendo el material fúngico en un disolvente adecuado como etanol o metanol durante un período determinado para permitir que los metabolitos se difundan en el disolvente. Esta técnica es muy fácil de realizar sin necesidad de equipo especializado, sin embargo, puede ser ineficiente en términos de tiempo y rendimiento (García et al., 2022).

Por otro lado, la extracción Soxhlet ofrece la ventaja de una extracción continua y eficiente al recircular disolvente caliente a través del material fúngico, lo que mejora la recuperación de metabolitos, especialmente aquellos que no son fácilmente solubles (Narváez et al., 2023). Sin embargo, esta técnica requiere equipo específico y tiene un mayor consumo de disolvente y energía. El método de extracción elegido, sin embargo, depende de varios factores como la naturaleza química de los metabolitos a extraer, el equipo disponible y la escala de producción prevista (Cárdenas & Espinoza, 2024).

### ***2.6.2. Métodos de verificación de actividad antimicrobiana***

La evaluación de la actividad antimicrobiana de metabolitos secundarios fúngicos se realiza comúnmente mediante métodos estandarizados, entre los cuales destacan el ensayo de difusión en agar y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). El ensayo de difusión en agar, también conocido como método de Kirby–Bauer, consiste en aplicar extractos fúngicos sobre discos de papel o en pocillos perforados en un medio sólido inoculado previamente con una cepa bacteriana.

Luego de la incubación, se observa la formación de halos de inhibición alrededor de los discos o pocillos, los cuales indican la sensibilidad del microorganismo frente al extracto evaluado (Narváez et al., 2023). Por otro lado, la CMI se determina generalmente en medios líquidos mediante diluciones sucesivas del extracto, identificando la menor concentración capaz de inhibir visiblemente el crecimiento bacteriano (Navarro et al., 2022). Ambos métodos son herramientas fundamentales en microbiología para analizar la eficacia de sustancias antimicrobianas y seleccionar compuestos con potencial terapéuticos.

## CAPÍTULO III

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se centró en el estudio de la capacidad antimicrobiana de extractos de hongos aislados del páramo del Parque Cayambe – Coca. Los hongos comprenden cinco géneros distintos conformados por *Microsporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Mucor* (Tabla 2).

**Tabla 2.**

*Lista de cepas fúngicas aislada del páramo clasificadas en filo, género y especie.*

CEPA	ESPECIE	FILO
PQ1	<i>Aspergillus</i> sp.	
MP4	<i>Aspergillus</i> sp.	
PP3	<i>Aspergillus</i> sp.	
MP3	<i>Microsporium</i> sp.	Ascomycota
MP1	<i>Microsporium</i> sp.	
PP2	<i>Penicillium griseofulvum</i>	
PP4	<i>Rhizopus</i> sp.	
MQ1	<i>Mucor hiemalis</i>	Mucoromycota

#### 3.1. Descripción de la investigación

Se analizó la capacidad de adaptación de los hongos a medio de cultivo líquido, Caldo Papa Dextrosa (PDB) y Extracto de Malta (EM), en donde se evaluó su rendimiento (mg/mL) y esporulación (UFC/mL) durante 21 días a 25 °C ± 2, para determinar las cepas y el medio con mejor rendimiento en la producción de biomasa seca.

La actividad antimicrobiana de los extractos se analizó mediante el método de difusión de pocillos en agar Muller Hinton contra *Staphylococcus aureus* ATCC 1026, para determinar la bioactividad de los extractos analizados.

### 3.1.1. Diseño estadístico

El rendimiento de producción de biomasa se evaluó mediante un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño completamente al azar con un arreglo factorial  $8 \times 2$ , correspondientes a ocho cepas fúngicas distintas y a dos medios de cultivo (PDB y EM). Cada tratamiento contó con tres repeticiones. Se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$  para determinar los mejores tratamientos (Tabla 3).

**Tabla 3.**

*Tratamientos empleados en la evaluación de la producción de biomasa.*

<b>Tratamiento</b>	<b>Significado</b>
PQ1PDB	Cepa PQ1 ( <i>Aspergillus</i> sp.) en medio de cultivo Caldo Papa Dextrosa
PQ1EM	Cepa PQ1 ( <i>Aspergillus</i> sp.) en medio de cultivo Extracto de Malta
MP3PDB	Cepa MP3 ( <i>Microsporum</i> sp.) en medio de cultivo Caldo Papa Dextrosa
MP3EM	Cepa MP3 ( <i>Microsporum</i> sp.) en medio de cultivo Extracto de Malta
PP2PDB	Cepa PP2 ( <i>Penicillium griseofulvum</i> ) en medio de cultivo Caldo Papa Dextrosa
PP2EM	Cepa PP2 ( <i>Penicillium griseofulvum</i> ) en medio de cultivo Extracto de Malta
MQ1PDB	Cepa MQ1 ( <i>Mucor hiemalis</i> ) en medio de cultivo Caldo Papa Dextrosa
MQ1EM	Cepa MQ1 ( <i>Mucor hiemalis</i> ) en medio de cultivo Extracto de Malta
MP4PDB	Cepa MP4 ( <i>Aspergillus</i> sp.) en medio de cultivo Caldo Papa Dextrosa
MP4EM	Cepa MP4 ( <i>Aspergillus</i> sp.) en medio de cultivo Extracto de Malta
PP4PDB	Cepa PP4 ( <i>Rhizopus</i> sp.) en medio de cultivo Caldo Papa Dextrosa
PP4EM	Cepa PP4 ( <i>Rhizopus</i> sp.) en medio de cultivo Extracto de Malta
MP1PDB	Cepa MP1 ( <i>Microsporum</i> sp.) en medio de cultivo Caldo Papa Dextrosa
MP1EM	Cepa MP1 ( <i>Microsporum</i> sp.) en medio de cultivo Extracto de Malta
PP3PDB	Cepa PP3 ( <i>Aspergillus</i> sp.) en medio de cultivo Caldo Papa Dextrosa
PP3EM	Cepa PP3 ( <i>Aspergillus</i> sp.) en medio de cultivo Extracto de Malta

La actividad antimicrobiana se registró como una variable categórica, considerando la presencia o ausencia de inhibición del crecimiento bacteriano. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de chi-cuadrado ( $\chi^2$ ), con el fin de evaluar la relación entre el tratamiento y la actividad antimicrobiana observada. El control negativo se utilizó como referencia para descartar la influencia del medio de cultivo en la inhibición de crecimiento bacteriano, mientras que el control positivo permitió validar la sensibilidad del método. Se considero un nivel de significancia de  $p < 0,05$  (Tabla 4).

**Tabla 4.**

*Tratamientos empleados en la evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos extracelulares de los hongos PP3 (Aspergillus sp.) y MP3 (Microsporium sp.).*

<b>Tratamiento</b>	<b>Significado</b>
T1	100 mg/mL extractos extracelulares de la cepa PP3
T2	50 mg/mL extractos extracelulares de la cepa PP3
T3	100 mg/mL extractos extracelulares de la cepa MP3
T4	50 mg/mL extractos extracelulares de las cepas MP3
C+	Cloranfenicol 1 mg/mL
C-	Agua destilada estéril

**Nota:** Cada tratamiento fue evaluado mediante repeticiones independientes en cajas Petri separadas para cada extracto de hongo.

Los análisis estadísticos se realizaron en el software InfoStat.

**3.1.2. Descripción del área de estudio**

El presente estudio se realizó en los laboratorios de Biotecnología Aplicada ubicados en el campus “Antiguo Hospital San Vicente de Paul” perteneciente a la Universidad Técnica del Norte localizada en la ciudad de Ibarra, Imbabura – Ecuador. GD: 0.3472557158124039, -78.11369112911783.

## **3.2. Establecimiento de medios de cultivo líquidos para el crecimiento de hongos**

### ***3.2.1. Activación de cepas fúngicas***

La presente investigación utilizó cepas puras de hongos aislados del ecosistema de páramo, provenientes del proyecto de investigación BIOGEEC y conservadas en el cepario del Laboratorio de Biotecnología Aplicada (Farinango & López, 2022). Las cepas empleadas se detallan en la Tabla 1.

Las cepas se activaron con el uso de capilares estériles en medio de cultivo PDA (Agar de Papa y Dextrosa) según especificación del fabricante y se cultivaron en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C) durante 7 días (Cepeda, 2010; Gómez, 2011).

### ***3.2.2. Reactivación y mantenimiento de cepas fúngicas***

La obtención de cultivos activos se realizó mediante la técnica de transferencia de discos de micelio tomados a partir de la zona proliferativa, utilizando medio de cultivo PDA, los cuales fueron incubados en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente durante cinco días (León et al., 2024).

### ***3.2.3. Cultivos líquidos***

A partir de los cultivos sólidos se extrajeron discos de agar infestado de cada cepa tomados de la zona proliferativa del hongo, estos se introdujeron en tubos Falcón de 50 mL de capacidad con 25 mL de PDB preparado según especificación del fabricante (24 g/L) y se llevaron a vortex por 3 segundos, luego a incubación a temperatura ambiente y oscuridad durante 24 h (Mena et al., 2021). Al cabo de este tiempo se tomó una alícuota de 10  $\mu$ L de cada tubo, se colocó dentro de tubos Eppendorf, posteriormente se agregaron 40  $\mu$ L de solución contable compuesta por Tween 80 al 0.625 % y azul de lactofenol al 33.33% (Plata et al., 2021). Se llevó la solución con hongo a vortex durante 5 segundos, finalmente se tomó una alícuota de 10  $\mu$ L y se colocó en cámara de Neubauer para realizar el conteo de esporas, obteniendo la concentración de esporas presentes en cada tubo (López et al., 2022).

### 3.2.4. Criterio de conteo

El conteo de esporas se realizó en los cuadrantes interiores de la cámara de Neubauer. Se utilizó el aumento 40 X (Quispe et al., 2024). En la Figura 1 se muestra los cuadrantes de conteo y el método de conteo pertinente para cada celda. Se contó únicamente los cuerpos miceliales que no se encontraban sobre una línea, las hifas tampoco se tomaron en cuenta para el conteo. Se utilizó la Ecuación 1 para la cuantificación y se reportó en Unidades Formadoras de Colonia por mililitro (UFC/mL).

#### Ecuación 1.

Ecuación del cálculo de Unidades Formadoras de Colonia sobre mililitros (UFC/mL).

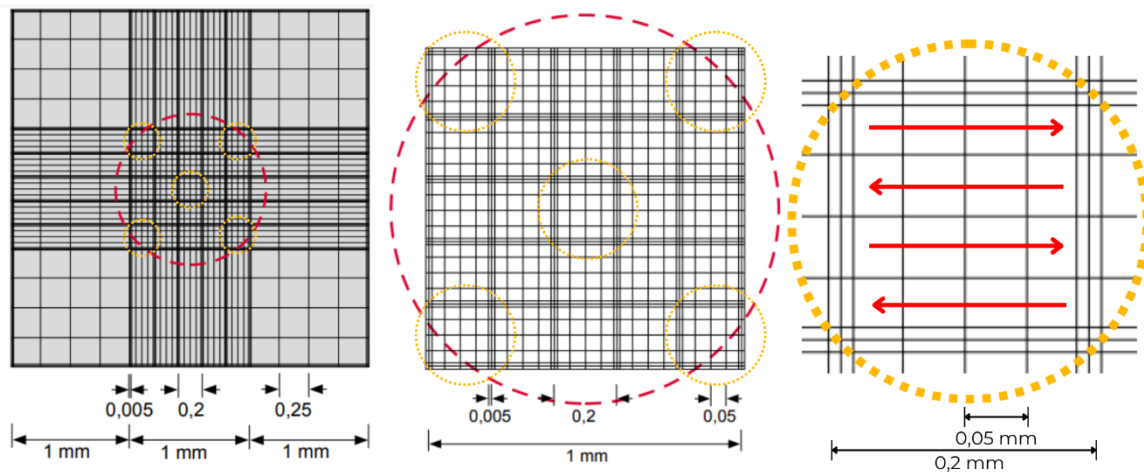
$$\left[ \frac{UFC}{mL} \right] = \frac{(5 * 10^4) * UFC * FD}{mL}$$

FD=Factor de dilución

UFC=Unidades Formadoras de Colonia

#### Figura 1.

Celdas de conteo en cámara de Neubauer.



### 3.2.5. Inóculo fúngico

Para cada cepa se prepararon tubos Falcon con 25 mL de medio de cultivo líquido, utilizando por separado caldo papa dextrosa (PDB), preparado según las especificaciones del fabricante (24 g/L), y extracto de malta (EM), preparado según las especificaciones del fabricante (20 g/L). Cada medio de cultivo fue inoculado con una concentración inicial de  $10^6$  UFC/mL,

posteriormente los cultivos se homogeneizaron en vortex durante 5 segundos y se incubaron en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente durante 21 días (Alhaidari, 2013). Esto se realizó por triplicado para cada medio de cultivo.

Cada 48 h se homogeneizaron los cultivos en vortex durante 5 segundos y luego se tomó una alícuota de 10  $\mu$ L, esta se diluyó en 40  $\mu$ L de la Solución Contable. Posteriormente se homogeneizó cada tubo Eppendorf y se llevó a conteo en cámara de Neubauer (Lilli, 2021). Se registró los datos en Excel y se graficó curvas en base a la concentración de esporas de cada cepa en los dos medios estudiados.

### **3.2.6. Obtención de biomasa seca**

Al cabo de 21 días se filtró el micelio del caldo utilizando papel filtro previamente pesado en balanza analítica. El micelio retenido fue secado durante 24 horas a 60 °C. luego se pesó el papel filtro con el micelio retenido y se registró la biomasa seca obtenida de cada ensayo (Mena et al., 2021).

## **3.3. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de hongos**

### **3.3.1. Obtención de extractos**

El medio de cultivo filtrado se recuperó en jeringas estériles y se filtró nuevamente a través de filtro Whatman 0.22  $\mu$ . Se concentró el medio filtrado en rotavapor a 150 rpm y 72 mbar a 37 °C, el concentrado se pesó en balanza analítica y se recuperó con 1 mL de agua destilada. Luego se almacenó el extracto en refrigeración a – 20 °C. (Cabrera & Gabriela, 2015).

### **3.3.2. Inoculo bacteriano**

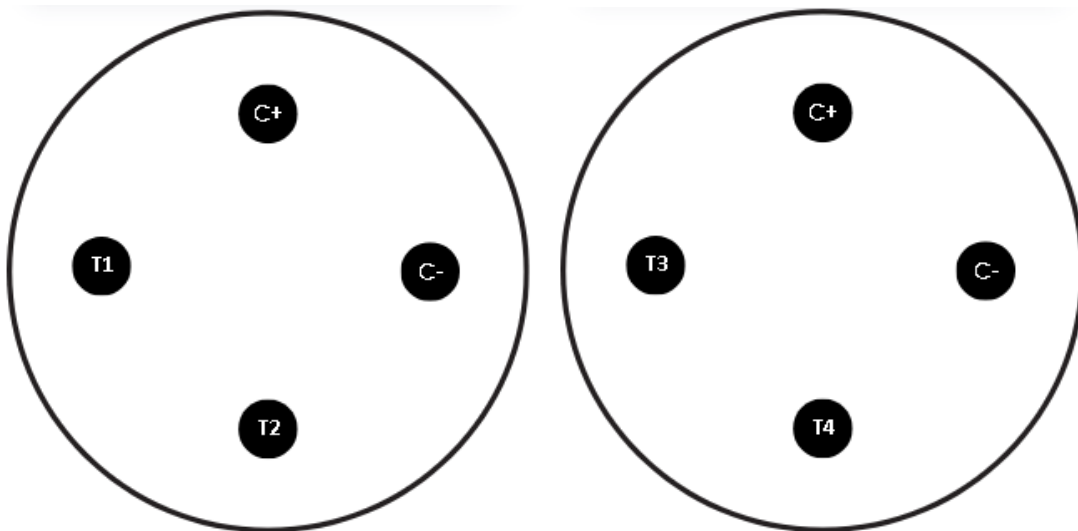
Se preparó caldo nutriente 30 g/L según especificación del fabricante y se esterilizó a 121 °C y 15 psi durante 15 min en autoclave. Se dispensó 5 mL del medio en tubos de ensayo. Luego a partir de cajas Petri cultivadas con *Staphylococcus aureus* ATCC 1026, se raspó con el asa microbiológica la superficie de la bacteria, se inocularon los tubos de ensayo con el medio caldo nutriente y con turbidímetro se ajustó la concentración celular a 0,5 en la escala de McFarland para luego ser llevado a incubación a 37°C 24h (Navarro et al., 2022). Estos cultivos se guardaron para ensayos posteriores.

### 3.3.3. Pruebas antimicrobianas

Se preparó Agar Muller Hinton y se inoculó con 100  $\mu\text{L}$  *Staphylococcus aureus* ATCC 1026 a 0,5 McFarland mediante siembra de césped, luego se perforaron pocillos como se muestra en la Figura 2. En los pocillos se dispensaron 50  $\mu\text{L}$  de los concentrados extracelulares, los cuales se diluyeron en agua destilada estéril a concentraciones de: 100 mg/mL y 50 mg/mL (Narváez et al., 2023). Como control negativo se usó agua destilada estéril, como control positivo se usó cloranfenicol 1 mg/mL. Esto se realizó por cuadruplicado.

#### Figura 2.

Distribución de pocillos en caja Petri para evaluación de efectividad antimicrobiana de los extractos extracelulares de los hongos PP3 (*Aspergillus sp.*) y MP3 (*Microsporium sp.*).



**Nota:** A la izquierda se muestran los extractos pertenecientes a la cepa PP3 (*Aspergillus sp.*) a la derecha se muestran los extractos pertenecientes a la cepa MP3 (*Microsporium sp.*).

## CAPÍTULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se detallan los resultados más relevantes de la investigación realizada y la discusión académica.

#### 4.1. Adaptación de hongos a medio de cultivo líquido

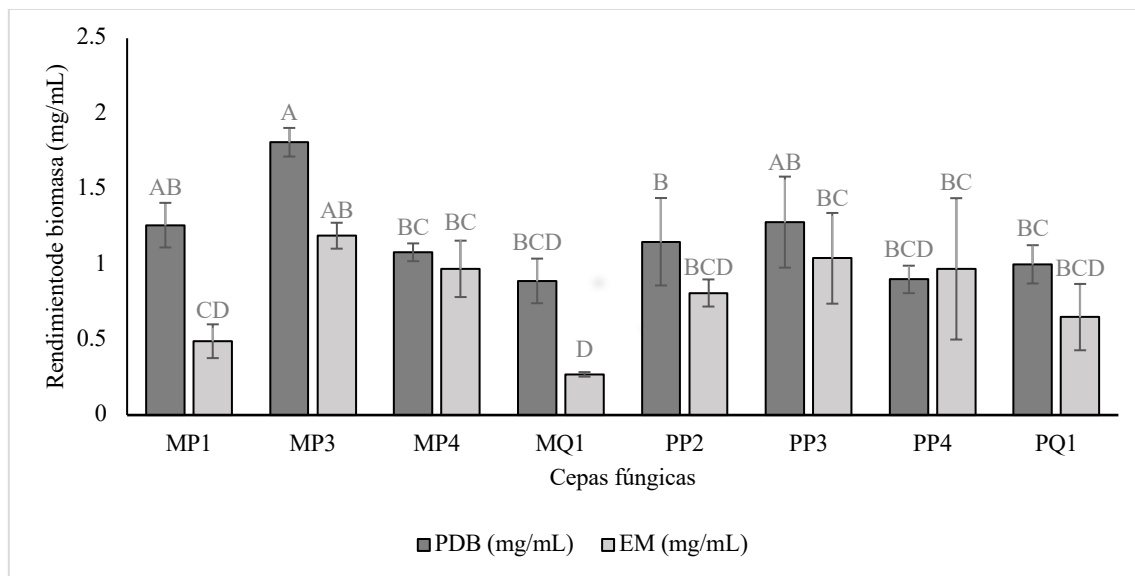
Las cepas fúngicas evaluadas presentaron una respuesta diferencial del cultivo en medios líquidos comerciales PDB (caldo papa dextrosa) y EM (extracto de malta), evidenciada tanto por la formación de estructuras vegetativas como por el rendimiento de biomasa seca en mg/mL (Figura 3). Estas diferencias reflejan una variabilidad en la adaptabilidad fisiológica de las cepas a los medios de cultivo analizados.

El análisis estadístico demostró la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0,01$ ; Anexo 7.1). La aplicación de la prueba de comparación múltiple de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) permitió agrupar los tratamientos en siete rangos de significancia, de acuerdo con su rendimiento de biomasa seca (Figura 3).

El mayor rendimiento de biomasa se registró en la cepa MP3 (*Microsporium sp.*) cultivada en el medio PDB, con una producción media de 1,81 mg/mL, ubicándose en el primer rango de significancia. Este resultado indica una alta capacidad de esta cepa para aprovechar los nutrientes disponibles en el medio PDB. En contraste, el menor rendimiento se observó en la cepa MQ1 (*Mucor hiemalis*) cultivada en el medio EM, con una producción media de 0,27 mg/mL, correspondiente al último rango de significancia.

**Figura 3.**

*Producción de Biomasa (mg/mL) en cultivos líquidos de hongos aislados del páramo cultivados en medios líquidos PDB y EM.*



**Nota:** Las barras representan la media de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

En general, la mayoría de las cepas mostraron mayores rendimientos de biomasa en el medio PDB en comparación con el medio EM, lo que sugiere que el PDB favorece el crecimiento micelial bajo las condiciones evaluadas. No obstante, la magnitud de esta respuesta varió entre cepas.

#### ***4.1.1. Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa MP3 (Microsporium sp.)***

La cepa MP3, cultivada en medio PDB, presentó un micelio superficial de color blanco que formó un tapón compacto de textura algodonosa, el cual se adhería a las paredes del reactor y cubría completamente la superficie del medio de cultivo. El micelio sumergido se observó casi transparente, conformado por estructuras hialinas flotantes dentro del medio líquido, sin adherirse a las paredes del reactor (Tabla 5).

En medio EM, presentó un micelio superficial de color blanquecino con estructuras algodonosas dispersas, que permitían observar el medio líquido entre ellas, probablemente por una menor cohesión micelial. El micelio sumergido se observó con una coloración

blanquecina tenue con estructuras irregulares y flotantes dentro del medio líquido, sin adherirse a las paredes del reactor.

Los tapones superficiales de micelio han sido documentados como cuerpos miceliales flotantes en cuerpos de agua en la naturaleza (Góralaska et al., 2020), estas estructuras pueden deber su flotabilidad a la producción de hidrofobinas, estas siendo proteínas producidas por los hongos frente a procesos de diferenciación celular, probablemente en este caso relacionadas a la diferenciación en estructuras reproductivas aéreas (Wösten, 2001). Al contrario, el micelio sumergido en dermatofitos similares como *Microsporum canis* ha sido relacionado con estructuras de anclaje a la dermis y a ambientes con una menor disponibilidad de oxígeno (Zhou et al., 2023).

La mayor cohesión micelial observada en el medio PDB en comparación con EM sugiere que la disponibilidad de azúcares simples y de rápida asimilación favoreció procesos de compactación hifal y el desarrollo de estructuras miceliales densas (Cairns et al., 2019). Este comportamiento ha sido asociado a condiciones que promueven el crecimiento vegetativo eficiente y la pelletización del micelio (Papagianni, 2004). En contraste, el medio EM, al contener sustratos más complejos como el extracto de malta, habría estimulado un crecimiento hifal más ramificado y disperso, posiblemente vinculado a una mayor heterogeneidad metabólica y a la activación de rutas asociadas a la exploración del sustrato y a procesos fisiológicos secundarios (Znidarsic, 2001).

En PDB al finalizar el cultivo, MP3 alcanzó una biomasa seca de 1,81 mg/mL. En EM al finalizar el cultivo, MP3 alcanzo una biomasa seca de 1.19 mg/mL, menor que en PDB, lo que sugiere que el medio PDB favoreció la formación de estructuras compactas frente a EM que favoreció la formación de estructuras miceliales dispersas y de menor densidad (Figura 3).

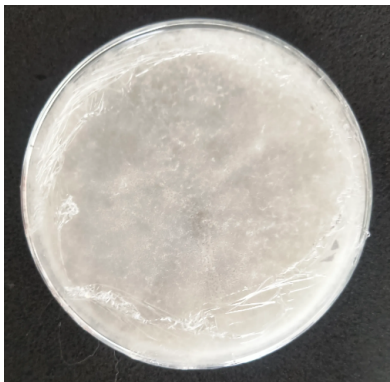
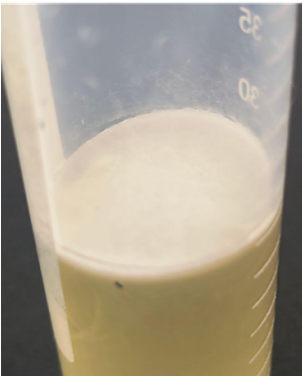
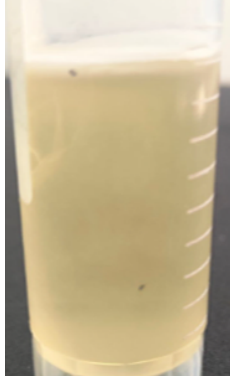

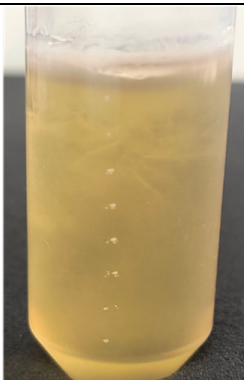
Estudios previos han reportado el cultivo de *Microsporum sp.* en medios líquidos sin nitrógeno suplementados con cabello humano, bajo condiciones de agitación y aireación constante, alcanzando producciones de biomasa de hasta 1,85 mg/mL (Kunert, 1972). Este valor es comparable con la biomasa obtenida por la cepa MP3 en medio PDB (1,81 mg/mL), lo que sugiere que dicho medio proporcionó condiciones favorables a nivel nutritivo para el crecimiento vegetativo del hongo, aun en ausencia de aireación y agitación mecánica.

En contraste, el rendimiento observado en EM (1,19 mg/mL) fue inferior, lo que podría estar relacionado con la complejidad del extracto de malta como fuente de carbono y nitrógeno. Asimismo, se ha descrito que factores como la aireación y la agitación influyen significativamente en el crecimiento y desarrollo de dermatofitos, favoreciendo ya sea la formación de biomasa compacta o el desarrollo de estructuras miceliales más dispersas (Weitzman & Summerbell, 1995).

En este contexto, los resultados obtenidos sugieren que PDB favoreció la formación de micelio compacto y una mayor acumulación de biomasa, mientras que EM promovió un crecimiento micelial menos denso, posiblemente asociado a una mayor ramificación hifal y a la activación de rutas metabólicas secundarias.

**Tabla 5.**

*Estructuras miceliales de la cepa MP3(Microsporium sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo.*

<b>MP3 (<i>Microsporium sp.</i>)</b>			
<b>Cultivo Sólido</b>	<b>Micelio superficial</b>	<b>Micelio sumergido</b>	<b>Medio de cultivo</b>
			<b>PDB</b>
			

#### **4.1.2. *Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa MP1 (Microsporium sp.)***

La cepa MP1 cultivada en medio PDB, presento un micelio superficial de color blanquecino con pequeñas aglomeraciones celulares como pellets dispersos en la superficie del líquido. El micelio sumergido se observó como estructuras altamente aglomeradas, ubicadas en el fondo y la zona media del reactor, con textura algodonosa y color blanquecino. En medio EM, no se observaron estructuras miceliales superficiales ni sumergidas, únicamente se pudo registrar acumulación de biomasa precipitada en el fondo del reactor (Tabla 6).

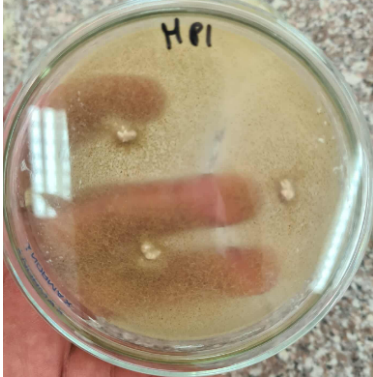

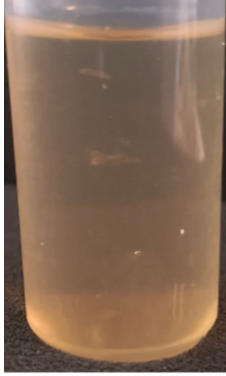
Bajo condiciones óptimas de desarrollo, los hongos tienden a formar estructuras reproductivas especializadas, como los esporangiosporos, las cuales suelen desarrollarse en la superficie del cultivo y dependen directamente de la capacidad del organismo para adaptarse al sustrato disponible (Moore-Landecker, 2011). La baja o casi nula presencia de estas estructuras superficiales sugiere que la cepa no se adaptó adecuadamente al medio líquido o, al menos, no alcanzó un nivel de adaptación suficiente para inducir la formación de estructuras superficiales (Papagianni, 2004). Este comportamiento también podría estar relacionado con una producción limitada de hidrofobinas, proteínas clave para la adhesión y flotabilidad (Wösten, 2001).

La mayor presencia de estructuras miceliales visibles en el medio PDB en comparación con EM puede atribuirse a la disponibilidad de sustratos fácilmente asimilables, los cuales favorecen un crecimiento hifal altamente cohesivo (Papagianni, 2004). En contraste, medios con composición más compleja, como EM, pueden no resultar óptimos para cepas que presentan una limitada capacidad de adaptación a sistemas líquidos, promoviendo un crecimiento más disperso del micelio (Znidarsic, 2001).

En PDB se presentó un rendimiento de biomasa seca de 1.26 mg/mL. En EM, se presentó un rendimiento de biomasa seca de 0.49 mg/mL. menor que en PDB, lo que sugiere que el medio PDB favoreció la formación de estructuras vegetativas compactas y predominante sumergidas, frente a EM que no favoreció la formación de estructuras miceliales (Figura 3).

**Tabla 6.**

*Estructuras miceliales de la cepa MP1 (Microsporium sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo.*

<b>MP1 (<i>Microsporium sp.</i>)</b>			
<b>Cultivo Sólido</b>	<b>Micelio superficial</b>	<b>Micelio sumergido</b>	<b>Medio de cultivo</b>
			<b>PDB</b>
	Ausencia de micelio superficial	Ausencia de micelio sumergido	<b>EM</b>

#### **4.1.3. Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa PP3 (*Aspergillus sp.*)**

La cepa PP3 cultivada en medio PDB, presentó un micelio superficial de coloración oscura casi negruzca, formando un tapón en la superficie. El micelio sumergido presentó estructuras compactas aglomeradas al fondo y cerca de la superficie del reactor. En EM, el micelio superficial fue de coloración clara casi café. El micelio sumergido se presentó como estructuras dispersas poco aglomeradas que generaban turbidez (Tabla 7).

La coloración observada podría atribuirse a una mayor concentración de melanina o a la formación de conidios pigmentados, fenómeno reportado en especies como *Aspergillus fumigatus* durante etapas tardías del desarrollo micelial en respuesta a procesos de diferenciación celular reproductiva (Geib et al., 2016). En cultivos estáticos, los hongos filamentosos tienden a formar agregados miceliales como respuesta a la distribución heterogénea de recursos, particularmente oxígeno y nutrientes. En contraste, en cultivos agitados, la aireación y la agitación constantes favorecen una distribución más homogénea

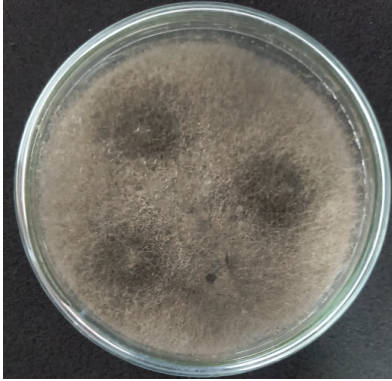

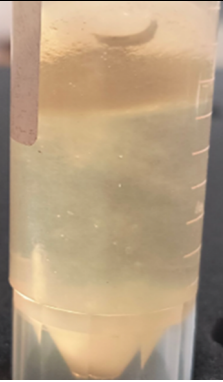
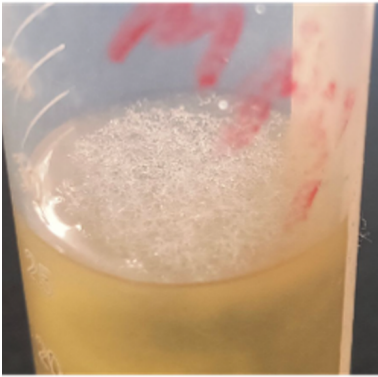

de estos factores, lo que limita la formación de pellets miceliales y promueve un crecimiento más disperso del micelio (Cairns et al., 2019).

La mayor aglomeración micelial observada en el medio PDB en comparación con EM sugiere que la disponibilidad de azúcares simples y de rápida asimilación favoreció procesos de compactación hifal y el desarrollo de estructuras miceliales densas (Cairns et al., 2019). Este comportamiento se ha relacionado a condiciones que promueven el crecimiento vegetativo y la pelletización del micelio (Papagianni, 2004). En contraste, el medio EM, al contener sustratos más complejos como el extracto de malta, habría estimulado el desarrollo de estructuras reproductivas y de hifas altamente ramificadas y de baja cohesión (Kavanagh, 2017; Lu et al., 2024). Esto también puede relacionarse con la activación de rutas asociadas a la exploración del sustrato y a procesos fisiológicos secundarios (Znidarsic, 2001).

En PDB se obtuvieron 1.28 mg/mL de biomasa seca. En EM se obtuvieron 1.04 mg/mL de biomasa seca, lo que sugiere que el medio PDB favoreció la formación de estructuras vegetativas compactas tanto sumergidas como superficiales, al contrario de EM que no favoreció la formación de estructuras vegetativas compactas (Figura 3).

**Tabla 7.**

*Estructuras miceliales de la cepa PP3 (Aspergillus sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo.*

<b>PP3 (<i>Aspergillus sp.</i>)</b>			
<b>Cultivo Sólido</b>	<b>Micelio superficial</b>	<b>Micelio sumergido</b>	<b>Medio de cultivo</b>
			PDB
			

#### ***4.1.4. Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa MP4 (Aspergillus sp.)***

La cepa MP4, cultivada en medio PDB, presentó un micelio superficial organizado en estructuras dispersas, conformadas por pequeños pellets de color blanco, con textura viscosa y baja uniformidad. El micelio sumergido presentó pellets de tamaño mediano alrededor de la zona superior e inferior del reactor, lo que sugiere una tendencia de la cepa MP4 a la pelletización del micelio. En medio EM no se observó desarrollo de micelio superficial. El micelio sumergido se observó aglomerado en el fondo del reactor, con textura algodonosa y coloración blanquecina, sin evidencias de estructuras compactas bien definidas (Tabla 8).

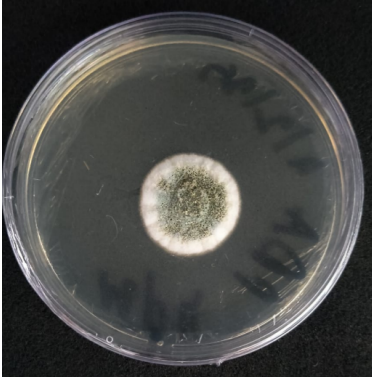

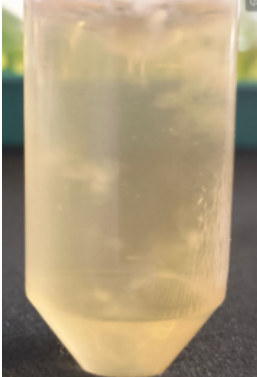
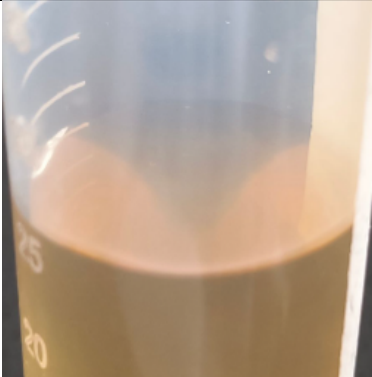
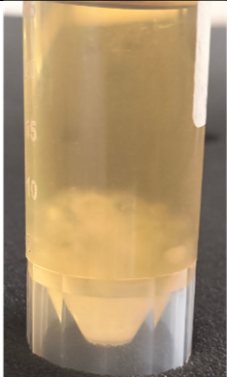
Hongos de este género como *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* han reportado la formación de pellets bajo condiciones de transferencia de masa limitada, en cultivos estáticos factores como el oxígeno y los nutrientes no se encuentran distribuidos de forma homogénea en el reactor por lo que el hongo busca aglomerarse en pellets para sobrevivir. (Papagianni, 2004; Veiter et al., 2018; Znidarsic, 2001).

La ausencia de micelio superficial en EM frente a PDB puede estar relacionado tendencia de algunas cepas de *Aspergillus flavus* a desarrollar micelio de baja flotabilidad en sustratos con fuentes de carbono complejas como el extracto de malta (Ibrahim et al., 2015; Veiter et al., 2018).

En PDB se obtuvieron 1.08 mg/mL de biomasa seca. En EM se obtuvieron 0.97 mg/mL de biomasa seca, valor inferior al obtenido en PDB, lo que sugiere que este medio no favoreció de manera eficiente la formación de estructuras vegetativas superficiales ni sumergidas (Figura 3).

**Tabla 8.**

*Estructuras miceliales de la cepa MP4 (Aspergillus sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo.*

MP4			
Cultivo Sólido	Micelio superficial	Micelio sumergido	Medio de cultivo
			PDB
			EM

#### ***4.1.5. Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa PQ1 (Aspergillus sp.)***

La cepa PQ1 cultivada en medio PDB presento un micelio superficial agrupado en pequeños pellets casi transparentes, dispersos en la superficie del medio líquido. El micelio sumergido se presentó como pequeñas estructuras algodonosas de color blanquecino distribuidas en el medio del reactor. En EM no se desarrolló micelio superficial. El micelio sumergido se presentó como estructuras alargadas, dispersas y blanquecinas en el líquido (Tabla 9).

En hongos del género *Aspergillus*, como *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*, se ha reportado la formación de pellets miceliales bajo condiciones de transferencia de masa

limitada, especialmente en cultivos estáticos, donde factores como el oxígeno y los nutrientes no se distribuyen de manera homogénea dentro del reactor (Papagianni, 2004). En este contexto, la aglomeración hifal en estructuras pelletizadas constituye una estrategia morfológica que favorece la captación eficiente de nutrientes disponibles (Veiter et al., 2018; Znidarsic, 2001).


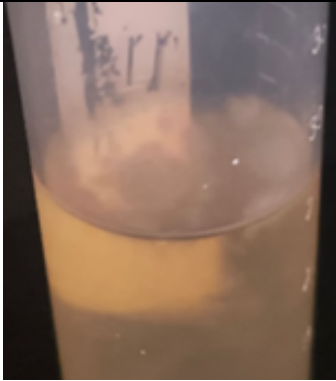
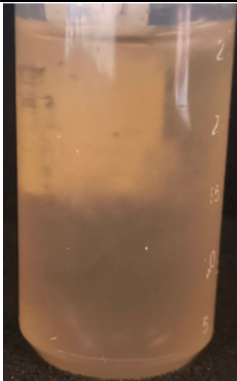
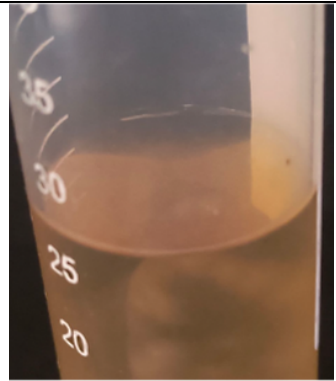
Asimismo, estudios realizados en medios de cultivo ricos en azúcares de fácil asimilación, como la dextrosa, han demostrado una marcada tendencia de especies de *Aspergillus* a desarrollar estructuras vegetativas aglomeradas, en detrimento de la formación de hifas elongadas o esporas, lo que refuerza la influencia conjunta del medio de cultivo y las condiciones físicas sobre la morfología micelial (Rahman & Mathur, 2022).

La ausencia de micelio superficial en el medio EM, en comparación con PDB, podría deberse a que no se alcanzó la densidad celular mínima necesaria para activar procesos de diferenciación celular mediados por quorum sensing (Barriuso et al., 2018). El medio PDB, al contener sustratos de fácil asimilación, habría favorecido un crecimiento vegetativo más rápido, permitiendo alcanzar dicho umbral y promoviendo la formación de estructuras superficiales (Veiter et al., 2018). En contraste, la mayor complejidad nutricional del medio EM pudo haber ralentizado el desarrollo micelial, impidiendo la activación de estos procesos, lo que explicaría la ausencia de micelio superficial bajo estas condiciones.

En PDB al final del cultivo se obtuvo 1.0 mg/mL. En EM se obtuvo 0.65 mg/mL de biomasa seca, menos que en PDB, lo que sugiere que el medio EM no favoreció de manera eficiente la formación de estructuras vegetativas superficiales ni sumergidas (Figura 3).

**Tabla 9.**

*Estructuras miceliales de la cepa PQ1 (Aspergillus sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo.*

PQ1			
Cultivo Sólido	Micelio superficial	Micelio sumergido	Medio de cultivo
			PDB
			EM

**4.1.6. Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa PP2 (*Penicillium griseofulvum*.)**

La cepa PP2 en medio de cultivo PDB presento un micelio superficial con una estructura continua y delgada, similar a una “hoja” de color blanco que cubrió toda la superficie del medio líquido. El micelio sumergido se presentó como estructuras aglomeradas casi transparentes distribuidas arriba y abajo del reactor. En EM, el micelio superficial se aglomero en pellets flotantes de mediano tamaño y coloración verdosa, estos no llegaron a cubrir la totalidad de la superficie del líquido. El micelio sumergido en EM se presentó como estructuras levemente aglomeradas y distribuidas a través del reactor (Tabla 10).

La capa micelial flotante observada en los medios PDB y EM podría estar relacionada con adaptaciones al crecimiento en sustratos líquidos descritas en *Penicillium* y otros hongos filamentosos de géneros como *Aspergillus* y *Microsporum*, pertenecientes principalmente a los filos Ascomycota y Mucoromycota, en los que se ha reportado la producción de hidrofobinas, proteínas clave que confieren flotabilidad al micelio y que suelen asociarse a procesos de diferenciación celular y al desarrollo de estructuras con función reproductiva (Wösten, 2001). Por otro lado la pelletización sumergida es una respuesta común en cultivos estáticos donde la transferencia de masa es limitada, esto ha sido reportado en otras especies como *Penicillium ochrochloron* (García-Reyes et al., 2017; Saraswathy & Hallberg, 2005).

Adicionalmente el tipo de sustrato condiciona la ramificación hifal y la tendencia a la formación de pellets de modo que sustratos ricos en azúcares de fácil asimilación como el medio PDB favorecen la formación de estructuras pelletizadas mientras que medios más complejos tienden a promover una mayor ramificación hifal y un crecimiento micelial más disperso como ha sido descrito previamente (Schneider et al., 2014).

La pigmentación verde en *Penicillium* se asocia principalmente a la aglomeración de conidios, es decir estructuras reproductivas, se han reportado cepas de *Penicillium* con conidios de color blanco, verde y hasta verde grisáceo (Wang et al., 2017). Esto sugiere que EM favoreció, al menos parcialmente la conidiación o la diferenciación de estructuras reproductivas, fenómenos reportado en cultivos con medios de cultivo que contienen azúcares complejos, mientras que PDB estimulo un desarrollo de estructuras vegetativas no reproductivas (Papagianni, 2004).

En PDB al final del cultivo se obtuvo 1.15 mg/mL de biomasa seca. En EM se obtuvieron 0.81 mg/mL de biomasa seca, menos que lo obtenido en PDB lo que sugiere que las azúcares simples fomentan un desarrollo vegetativo frente a las azúcares complejas que fomentan el crecimiento de hifas alargadas y estructuras reproductivas (Figura 3).

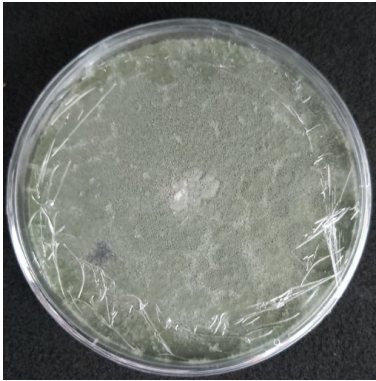
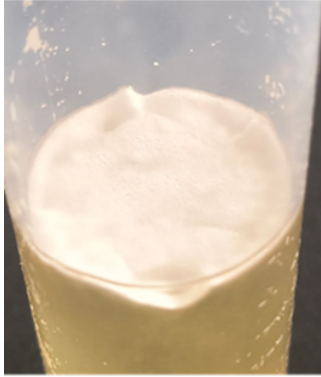
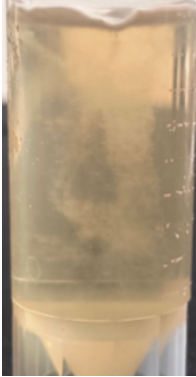
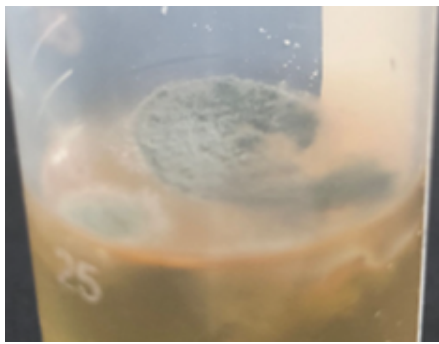

**Tabla 10.**

*Estructuras miceliales de la cepa PP2 (Penicillium griseofulvum) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo.*

---

**PP2 (*Penicillium griseofulvum*)**

---

Cultivo Sólido	Micelio superficial	Micelio sumergido	Medio de cultivo
			PDB
			EM

#### 4.1.7. Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa PP4 (*Rhizopus sp.*)

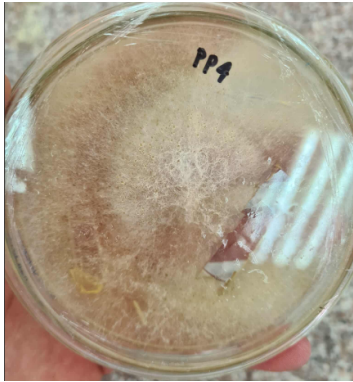
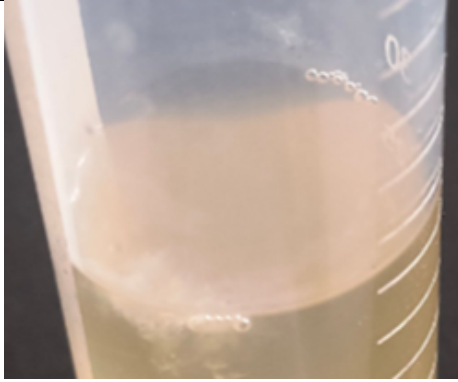


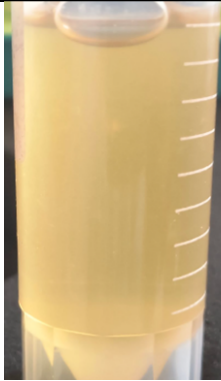
La cepa PP4 en medio de cultivo PDB, no presenta un micelio superficial, por otro lado, el micelio sumergido se observó como turbidez en el medio. En EM, tampoco se formó micelio superficial, en cambio su micelio sumergido se presentó como turbidez en el medio líquido (Tabla 11).

La ausencia de micelio superficial puede explicarse por las características estáticas del cultivo, ya que se ha reportado que hongos como *Rhizopus oryzae* requieren de agitación y aireación constantes en cultivo líquido (Zhang et al., 2007). La pelletización sumergida también se ve afectada al desarrollarse en cultivo líquido generando hifas ramificadas con poca o nula cohesión entre ellas, explicando la turbidez observada (Torchi, 2025).

En PDB se obtuvieron 0.90 mg/mL de biomasa seca, lo que puede sugerir un crecimiento vegetativo leve. En EM se obtuvieron 0.97 mg/mL, mayor que en PDB, esto puede sugerir que la cepa tenga una mayor afinidad por sustratos complejos, como es el caso de EM, pese a ello la ausencia de un sistema de aireación y agitación fueron factores críticos para el desarrollo del hongo (Figura 3).

**Tabla 11.**

*Estructuras miceliales de la cepa PP4 (Rhizopus sp.) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo.*

<b>PP4 (<i>Rhizopus sp.</i>)</b>			
<b>Cultivo Sólido</b>	<b>Micelio superficial</b>	<b>Micelio sumergido</b>	<b>Medio de cultivo</b>
			<b>PDB</b>
			<b>EM</b>

**4.1.8. Influencia del medio de cultivo en la morfología micelial y producción de biomasa de la cepa MQ1 (*Mucor hiemalis*)**

La cepa MQ1 en medio de cultivo PDB no presentó micelio superficial. El micelio sumergido se presentó como estructuras algodonosas acumuladas en el fondo del reactor. En EM, no se

observó micelio superficial y su micelio sumergido se observaba como pequeñas estructuras algodonosas al fondo del reactor (Tabla 12).

Es probable que las condiciones de cultivo no hayan sido favorables para el desarrollo óptimo del hongo, tanto por la naturaleza del sustrato como por el carácter estático del cultivo. La baja flotabilidad del micelio observado podría estar asociada a una limitada o nula producción de hidrofobinas, proteínas clave para la flotabilidad y organización de estructuras miceliales, a pesar de evidenciarse una leve tendencia a la pelletización (Wösten, 2001).

Asimismo, la ausencia de estructuras miceliales bien definidas, como pellets compactos o hifas alargadas, puede restringir la eficiencia metabólica y la acumulación de biomasa, limitando en consecuencia el desarrollo fisiológico del hongo bajo las condiciones evaluadas (Veiter et al., 2018).

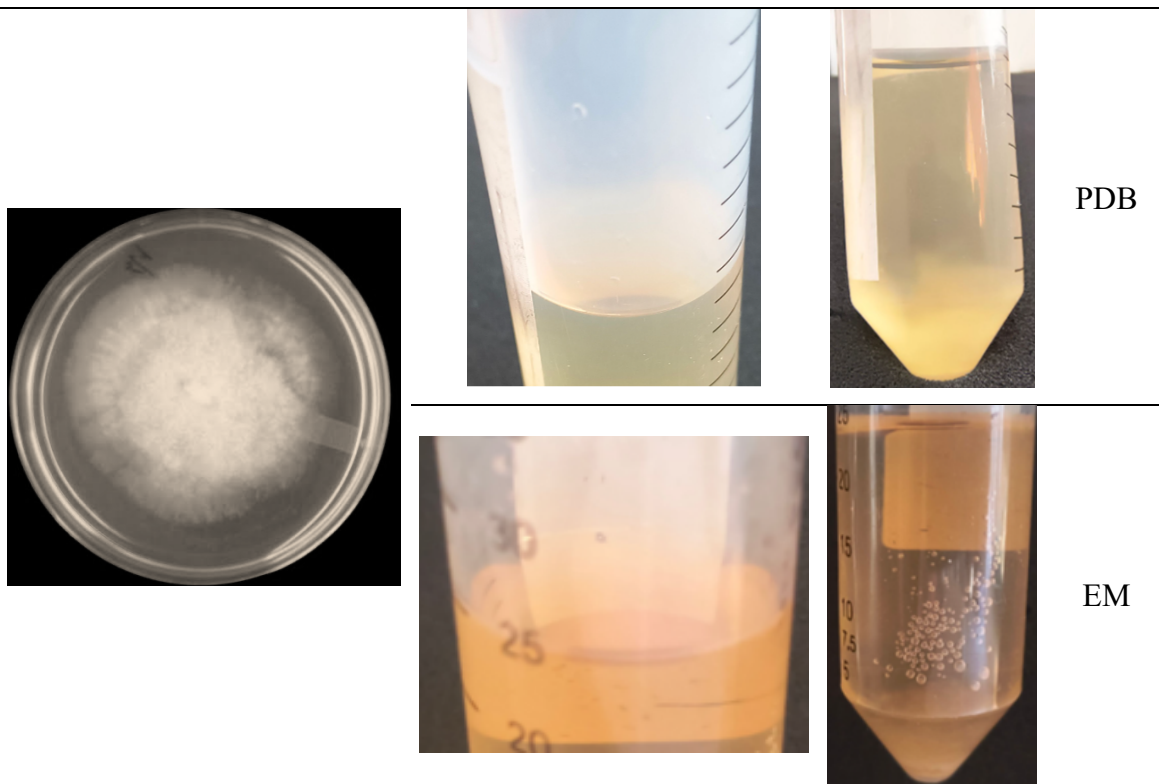
En PDB se obtuvieron 0,89 mg/mL de biomasa seca, mientras que en EM solo se alcanzaron 0,27 mg/mL, lo que indica un crecimiento vegetativo bajo, especialmente en EM. Esta diferencia sugiere que PDB ofreció condiciones nutricionales más favorables para el desarrollo micelial, mientras que la mayor complejidad del EM limitó la acumulación de biomasa bajo las condiciones de cultivo evaluadas (Papagianni, 2004) (Figura 3).

*Mucor hiemalis* se encuentra principalmente asociado a suelos y restos vegetales, más que a ambientes acuáticos, esto explicaría el bajo desempeño del hongo en los medios líquidos usados en esta investigación (Richardson & Rautemaa-Richardson, 2019). Sin embargo, existen excepciones, cepas de *Mucor hiemalis* aisladas de manantiales sulfurosos demostraron tener una alta adaptación a sustratos líquidos con altas concentraciones de metales pesados, mismas que luego fueron empleadas en procesos de biorremediación (Hoque & Fritscher, 2019).

**Tabla 12.**

*Estructuras miceliales de la cepa MQ1 (Mucor hiemalis) en cultivo sólido y líquido a los 21 días de cultivo.*

<b>MQ1 (<i>Mucor hiemalis</i>)</b>			
<b>Cultivo Sólido</b>	<b>Micelio superficial</b>	<b>Micelio sumergido</b>	<b>Medio de cultivo</b>



#### **4.2. Influencia del medio de cultivo en la esporulación durante 21 días de cultivo**

A continuación, se presenta la concentración diaria de esporas expresada en UFC/mL de cada cepa frente los medios PDB y EM, junto con las posibles relaciones y explicaciones biológicas asociadas a los patrones observados.

##### ***4.2.1. Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa MP3 (Microsporium sp.)***

La cepa MP3, presentó producciones de esporas similares en medio PDB y en EM durante las primeras etapas del cultivo, destacándose el periodo comprendido entre los días 0 a 2 como una fase de rápida adaptación y esporulación inicial (Figura 4). En este intervalo se alcanzaron concentraciones de  $3.0 \times 10^7$  UFC/mL en PDB y  $3.12 \times 10^7$  UFC/mL en EM.

Esta activación temprana del metabolismo reproductivo puede relacionarse con estudios que indican que hongos filamentosos pertenecientes al filo Ascomycota, cultivados en condiciones sumergidas atraviesan una breve fase de adaptación antes de iniciar una fase de esporulación exponencial, la cual puede extenderse hasta aproximadamente nueve días y está

favorecida por la alta disponibilidad de nutrientes en el medio de cultivo (Mascarin et al., 2024). Otros estudios sobre la diferenciación celular en hongos como *Geotrichum candidum* y *Mucor racemosus*, pertenecientes al filo Ascomycota, han demostrado como la esporulación temprana constituye una estrategia adaptativa para la colonización rápida del sustrato, incluso antes de que se produzca desarrollo micelial visible (Trinci & Collinge, 1974).

En el día 11 la concentración de esporas descendió hasta valores cercanos a  $4 \times 10^6$  UFC/mL tanto en PDB como en EM. Este patrón sugiere un agotamiento progresivo de nutrientes y una posible autólisis parcial del micelio, como ha sido descrito en cultivos líquidos de hongos filamentosos como *Beauveria*, *Fusarium* y *Trichoderma* (Vrabl et al., 2019). También, puede explicarse este descenso por la germinación de esporas producidas en etapas tempranas, lo que reduce el número de unidades viables sin afectar la biomasa total (Papagianni, 2004).

A partir del día 14, se evidenció una divergencia en el comportamiento según el medio de cultivo. En EM, se observó un nuevo periodo de esporulación, alcanzando hasta  $1 \times 10^7$  UFC/mL entre los días 14 y 18, seguido de una reducción a  $8 \times 10^6$  UFC/mL en el día 21. Este segundo pico puede atribuirse a la presencia de fuentes complejas de carbono y nitrógeno en el extracto de malta, las cuales estimulan rutas metabólicas secundarias asociadas a la conidiación tardía, fenómeno descrito también para *Clonostachys rosea* y *Trichoderma asperellum* (Mascarin et al., 2024).

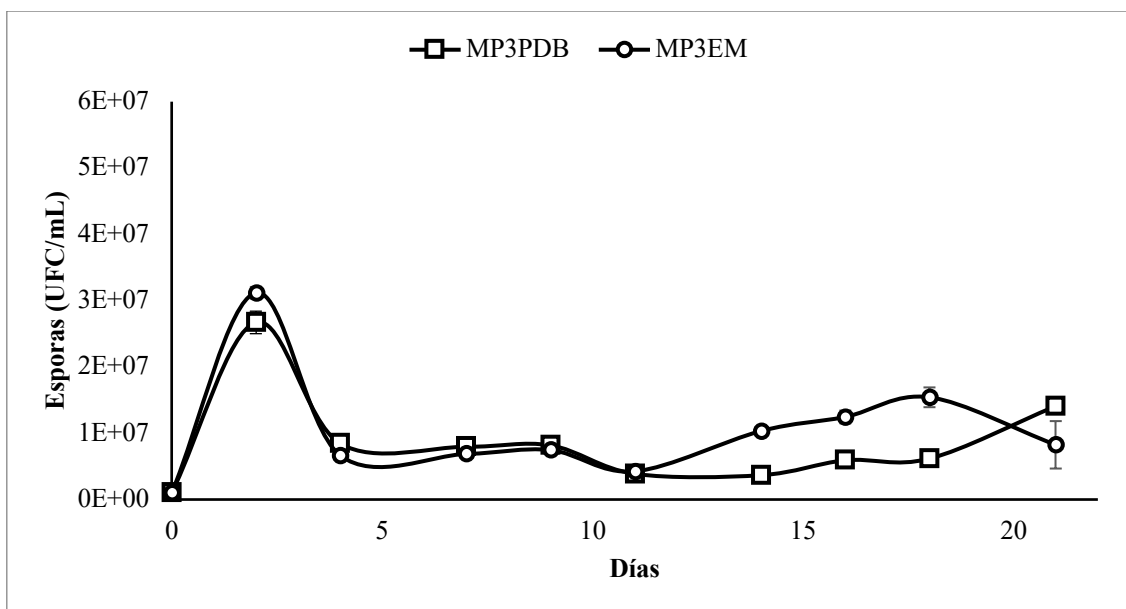
Por el contrario, en PDB la concentración de esporas se mantuvo relativamente estable entre los días 14 y 18, a un aproximado de  $5 \times 10^6$  UFC/mL, con un aumento final de  $1 \times 10^7$  UFC/mL en el día 21. Este comportamiento corresponde a una fase estacionaria prolongada, posiblemente relacionada a la presencia de carbohidratos de fácil asimilación presentes en PDB. Sustratos ricos en azúcares simples han demostrado favorecer la estabilidad metabólica

y la formación de estructuras vegetativas frente a estructuras reproductivas (Vrabl et al., 2019).

En síntesis, ambos medios permitieron la esporulación de MP3, no obstante, PDB favoreció una mayor estabilidad metabólica, mientras que EM probablemente promovió una esporulación tardía asociada a rutas metabólicas secundarias o reproductivas.

#### Figura 4.

*Esporulación de la cepa MP3 (Microsporium sp.) a lo largo de 21 días.*



#### 4.2.2. Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa MP1 (Microsporium sp.)

La cepa MP1 presentó en ambos medios de cultivo un patrón de esporulación temprana seguido de una ligera estabilización probablemente por una larga fase estacionaria. En PDB, alcanzó un pico de  $1.4 \times 10^7$  UFC/mL en el día 2, seguido de un descenso moderado a  $1.19 \times 10^7$  UFC/mL en el día 4 y una estabilización cercana a  $5.0 \times 10^6$  UFC/mL desde el día 7 hasta el día 21 (Figura 5).

Esto es coherente con lo descrito para hongos filamentosos cultivados en condiciones sumergidas donde la fase de adaptación suele ser breve y, bajo una alta disponibilidad de carbono y nitrógeno, se favorece una conidiación temprana, incluso antes de que el micelio

entre plenamente en fase de crecimiento vegetativo (M. Sharma et al., 2011). Estudios similares realizados en hongos como *Beauveria* y *Metarhizium*, han demostrado que medios ricos en carbohidratos solubles y fuentes de nitrógeno fácilmente asimilables como PDB, pueden inducir la formación temprana de blastoporos y conidios sumergidos, asociada a señales de abundancia de nutrientes y alta tasa de crecimiento específico (Mascarín et al., 2024).

Hacia el día 4 la concentración disminuyó a  $1.19 \times 10^7$  UFC/mL, lo cual puede indicar el inicio del agotamiento parcial de nutrientes y la transición hacia una fase metabólicamente más estable probablemente relacionada a procesos de germinación de conidios formados de forma temprana, reducción de viabilidad o autólisis del micelio (Papagianni, 2004).

A partir del día 7 hasta el día 21 la concentración de esporas se mantuvo cercana a  $5.0 \times 10^6$  UFC/mL, representando una fase estacionaria prolongada. Esto sugiere que PDB gracias a sus carbohidratos fácilmente asimilables logra sostener el metabolismo vegetativo sin iniciar un nuevo ciclo de esporulación (Vrabl et al., 2019).

En EM se observó un comportamiento similar a PDB en la fase temprana con un pico de  $1.1 \times 10^7$  UFC/mL en el día 2. La alta disponibilidad de carbohidratos complejos del EM pudo haber favorecido la conidiación temprana. En dermatofitos se ha demostrado que una alta concentración de maltosa y dextrinas promueve una transición acelerada hacia la fase reproductiva (Faway et al., 2021). Sin embargo, a diferencia de PDB la disminución posterior fue más marcada, partiendo desde el día con  $8.17 \times 10^6$  UFC/mL, hasta el día 16 con  $3.9 \times 10^6$  UFC/mL. Esto es coherente con el inicio de una fase estacionaria, tal como ocurrió en PDB.

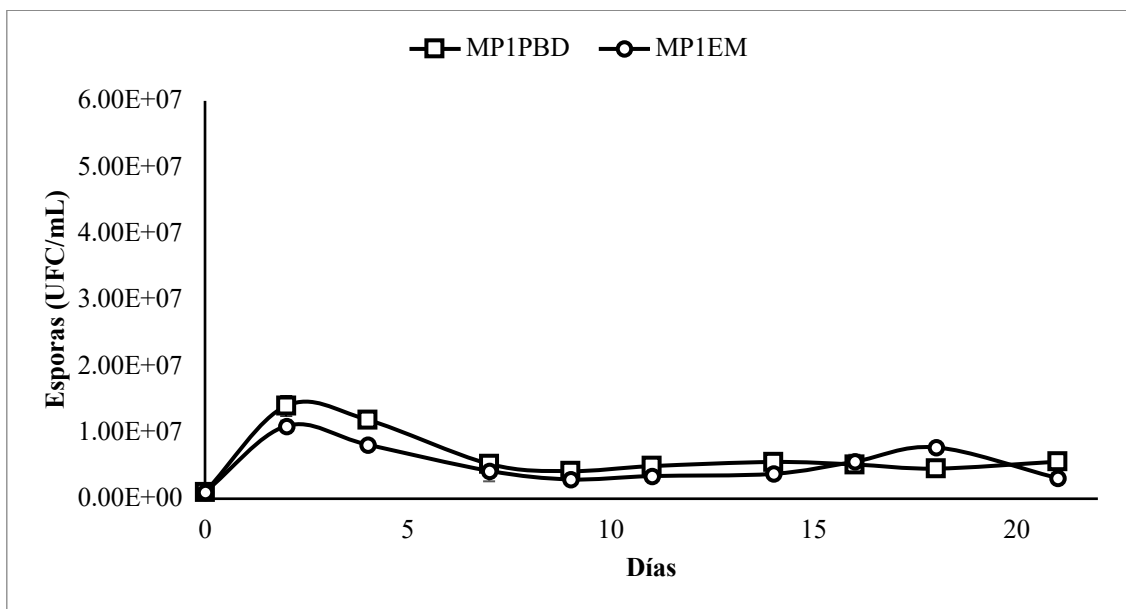
Al día 18 se pudo evidenciar un aumento en la concentración de esporas, alcanzando  $7.75 \times 10^6$  UFC/mL, implicando el aprovechamiento de rutas metabólicas secundarias o una posible respuesta a la acumulación de compuestos de desecho y la menor concentración de nutrientes disponibles (M. Sharma et al., 2011).

Finalmente se evidenció una reducción en la concentración de esporas terminando con  $3.13 \times 10^6$  UFC/mL en el día 21, lo cual puede indicar un agotamiento de los nutrientes aprovechables y una alta concentración de metabolitos inhibitorios, generando un autólisis del micelio (White et al., 2002).

En conjunto, ambos medios permitieron la esporulación temprana de la cepa MP1, sin embargo, PDB favoreció una fase estacionaria más estable y sostenida, mientras que EM mostró mayores fluctuaciones y una reducción progresiva de la viabilidad, por lo que PDB resultó más adecuado para mantener poblaciones esporuladas estables a lo largo del cultivo.

**Figura 5.**

*Esporulación de la cepa MP1 (Microsporium sp.) a lo largo de 21 días*



#### **4.2.3. Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa PP3 (*Aspergillus sp.*)**

La cepa PP3 presentó diferencias marcadas en la esporulación entre los medios PDB y EM, evidenciando que la composición nutricional influye directamente en la formación de estructuras reproductivas y en el estado fisiológico del micelio.

En PDB se observó un pico de esporulación tardío en el día 7, alcanzando  $1.79 \times 10^7$  UFC/mL, seguido de una fase estacionaria que se mantuvo hasta el día final del cultivo con valores cercanos a  $8.5 \times 10^6$  UFC/mL. Este comportamiento es coherente con el patrón descrito para otros hongos pertenecientes a *Aspergillus* donde la disponibilidad sostenida de carbohidratos simples como la glucosa y los compuestos complejos presentes en PDA favorecen tanto el crecimiento vegetativo como la conidiación (Fitriana et al., 2018).

La estabilidad posterior del cultivo sugiere que PDB proporciona un entorno que permite la transición hacia una fase estacionaria prolongada, asociada con una mayor estabilidad micelial y una conidiación mantenida en el tiempo, fenómeno que también ha sido reportado en otros aislamientos del género *Aspergillus* bajo medios ricos en carbono (Gao et al., 2007).

En el caso de EM, la cepa PP3 mostró un pico temprano de esporulación en el día 2, con  $1.03 \times 10^7$  UFC/mL, seguido de un descenso pronunciado hacia el día 4, llegando a valores cercanos a  $4.4 \times 10^6$  UFC/mL. Posteriormente, se registró un leve incremento hacia el día 16, llegando a  $8.5 \times 10^6$  UFC/mL (Figura 6).

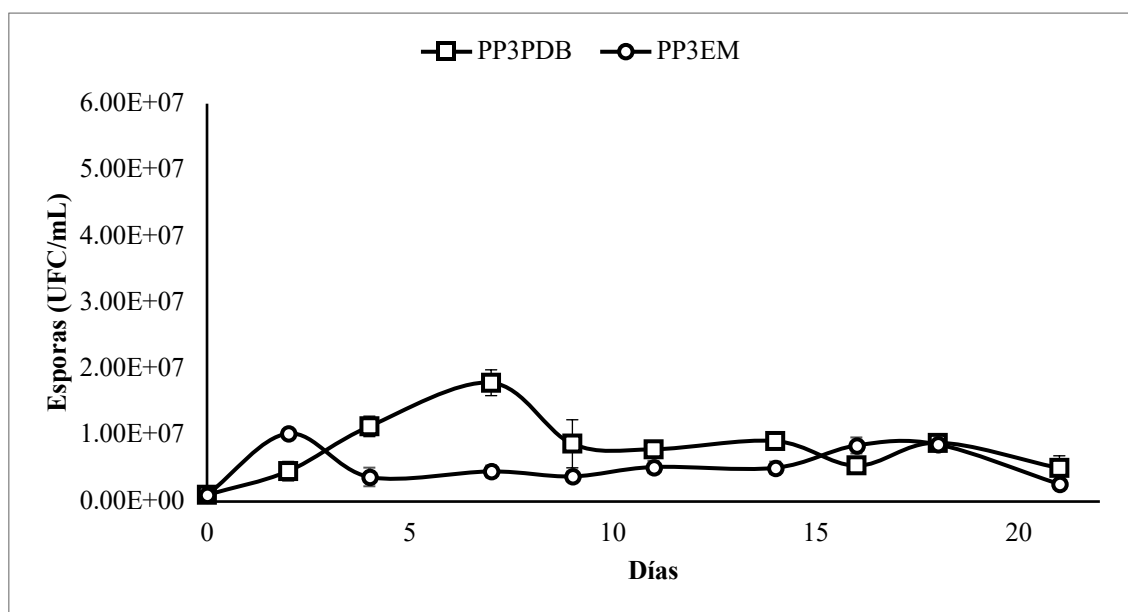
Este patrón indica que EM pudo haber inducido una conidiación más rápida, posiblemente debido a la presencia de azúcares fermentables y vitaminas características del extracto de malta, que pueden actuar como señales tempranas para la conidiación (Suleiman, 2023). Sin embargo, la cepa no logró mantener un estado vegetativo óptimo a largo plazo, lo que sugiere que EM ofrece un soporte nutricional menos estable que PDB en el tiempo.

Esta respuesta coincide con estudios donde se ha reportado que la composición nutricional del medio influye de forma directa en la magnitud y duración de la esporulación, especialmente en cultivos sumergidos (Atallah et al., 2022).

En resumen, PDB resultó más favorable para la cepa PP3 al permitir una esporulación sostenida y una mayor estabilidad fisiológica del micelio, mientras que EM indujo una conidiación temprana pero menos estable en el tiempo, evidenciando un soporte nutricional inferior para cultivos prolongados.

**Figura 6.**

*Esporulación de la cepa PP3 (Aspergillus sp.) a lo largo de 21 días.*



#### **4.2.4. Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa MP4 (Aspergillus sp.)**

La cepa MP4 mostró un patrón de esporulación altamente dependiente al medio de cultivo (Figura 7). En EM, alcanzó un pico de esporulación en el día 2 de  $4.39 \times 10^7$  UFC/mL, seguido de una caída hasta  $1.71 \times 10^7$  UFC/mL en el día 4, y llegando a un punto mínimo en el día 11 de  $2.67 \times 10^6$  UFC/mL. Esto es coherente con el comportamiento de varias especies de *Aspergillus* al desarrollarse en medios ricos en nutrientes, en donde la combinación de azúcares, péptidos y vitaminas favorecen la conidiación (Sheth et al., 2018).

La caída en el conteo reportada hacia el día 11 puede estar relacionada a que luego de la conidiación inicial los nutrientes se agotaron y esto dio paso a estrés fisiológico, provocando que la concentración de esporas se vea altamente reducida. La conidiación está regulada por la disponibilidad de fuentes de carbono y nitrógeno y por el balance entre el crecimiento vegetativo y la reproducción asexual. Hongos como *Aspergillus niger* y *Aspergillus nidulans* han mostrado que la relación C:N del sustrato influye directamente en la tasa de germinación de conidios, la tasa de crecimiento y en la capacidad de germinación de los conidios (Jia et al., 2024).

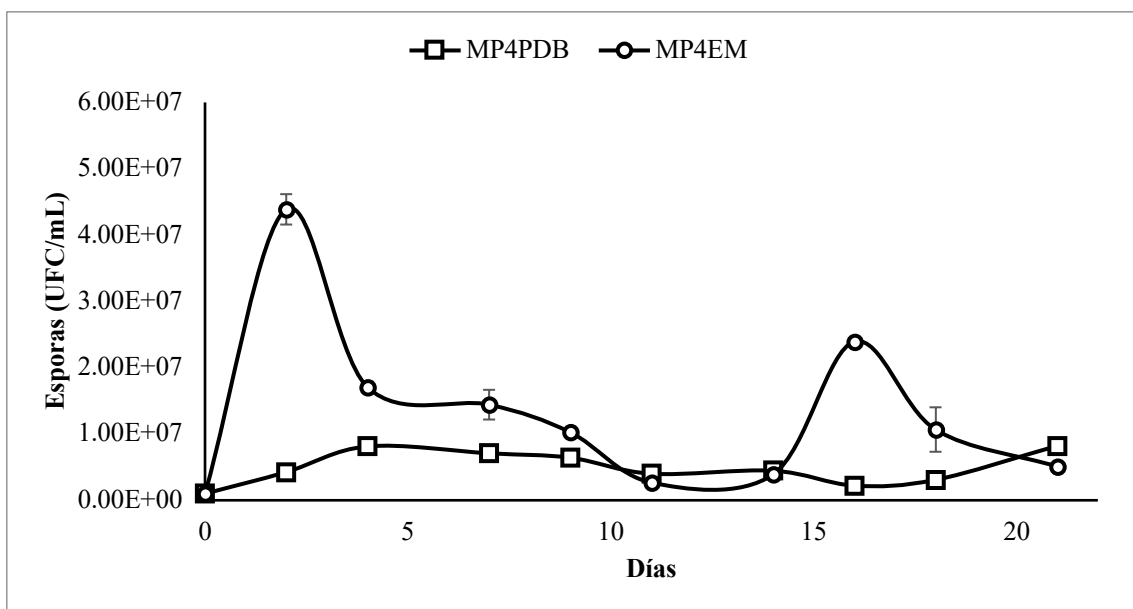
En el día 16 hubo una recuperación en la concentración de conidios, llegando a  $2.39 \times 10^7$  UFC/mL, luego hacia el día 21 la concentración de esporas volvió a reducirse hasta  $5.08 \times 10^6$  UFC/mL. Esto sugiere una respuesta adaptativa tardía de MP4. En ciertos casos hongos filamentosos pueden entrar en nuevos procesos de conidiación cuando existen limitaciones en el carbono o nitrógeno, siendo esto una respuesta adaptativa (G. Sharma & Pandey, 2010).

En cambio, en PDB, la mayor concentración de esporas fue de  $8.13 \times 10^6$  UFC/mL en el día 4, siendo inferior al máximo observado en EM. No existió una curva pronunciada en la concentración de conidios hasta el día 16 en el que se reportaron  $2.21 \times 10^6$  UFC/mL. Se ha reportado que PDB es un medio óptimo para el desarrollo vegetativo de hongos pero no siempre es el más eficiente en la estimulación de estructuras reproductivas como esporas (Ibrahim et al., 2015).

En síntesis, el medio EM indujo una temprana esporulación y de alta magnitud en la cepa MP4, aunque con fuertes fluctuaciones y baja estabilidad en el tiempo, mientras que PDB promovió una esporulación de magnitud más baja pero relativamente estable, por lo que EM fue más efectivo para inducir conidiación rápida y PDB resultó menos favorable para la producción sostenida de esporas.

### Figura 7.

*Esporulación de la cepa MP4 (Aspergillus sp.) a lo largo de 21 días.*



#### 4.2.5. *Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa PQ1 (Aspergillus sp.)*

La cepa PQ1, presentó un patrón de esporulación inicialmente diferenciado entre los medios de cultivo PDB y EM, seguido de una estabilización progresiva en ambos tratamientos. En el día 2 se registró un pico máximo en PDB de  $1.43 \times 10^7$  UFC/mL, superior al observado en EM de  $8.76 \times 10^6$  UFC/mL, lo que indica una activación temprana de los mecanismos de conidiación en presencia de una fuente de carbono más simple (Figura 8). Esto es consistente con lo descrito en otras especies de *Aspergillus* en donde las azúcares fácilmente asimilables inducen una rápida activación metabólica y una transición temprana a la conidiación (Papagianni, 2004).

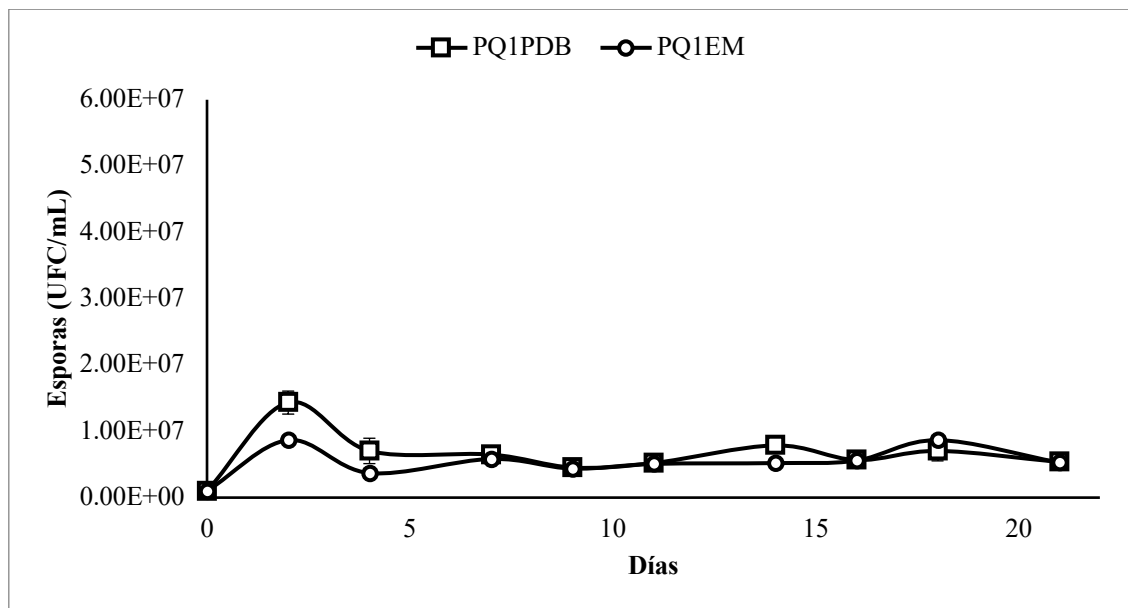
Otras investigaciones han demostrado que la alta disponibilidad de glucosa al inicio del crecimiento, estimula la expresión de genes asociados a la formación de conidios en *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus*, justificando los picos tempranos en la producción de esporas (Cairns et al., 2019). Por otro lado, EM, al contener una mezcla de carbohidratos complejos y una mayor diversidad nutricional, requiere una adaptación enzimática tardía. *Aspergillus oryzae* en fermentaciones sumergidas reportó un crecimiento más lento en medios de cultivo complejos, estos medios también estimularon procesos metabólicos secundarios a largo plazo (Veiter et al., 2018).

Entre los días 4 y 21, la concentración de esporas se mantuvo relativamente estable en ambos medios, alcanzando valores cercanos a  $5.8 \times 10^6$  UFC/mL, lo que sugiere el establecimiento de una fase estacionaria sostenida. Esto concuerda con el comportamiento de *Aspergillus sp* en cultivos líquidos estáticos, en donde, luego de un pico inicial, la limitación de nutrientes y acumulación de metabolitos secundarios inducen a una reducción en la tasa de conidiación activa, manteniendo una producción estacionaria a lo largo del tiempo (Vrabl et al., 2019).

En resumen, PDB favoreció una esporulación temprana y de mayor magnitud en la cepa PQ1, mientras que EM mostró una respuesta inicial más lenta, pero alcanzó una fase estacionaria comparable, por tanto, PDB resultó más efectivo para inducir conidiación rápida, sin diferencias claras entre medios en la estabilidad final del cultivo.

## Figura 8.

Esporulación de la cepa PQ1 (*Aspergillus* sp.) a lo largo de 21 días



### 4.2.6. Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa PP2 (*Penicillium griseofulvum*)

La cepa PP2, presentó una esporulación constante entre los medios PDB y EM, reflejando diferencias en la velocidad de actividad reproductiva y en la estabilidad de la población de esporas a lo largo del tiempo. Este comportamiento es coherente con lo descrito para *P. griseofulvum* y otros hongos del género *Penicillium* al desarrollarse en cultivos sumergidos, en donde la capacidad de modular la esporulación es dependiente de la composición del medio de cultivo (Valente et al., 2020).

En PDB se observó un comportamiento marcado por tres fases. Entre el día 0 al día 2, PP2 alcanza un pico temprano de  $1.12 \times 10^7$  UFC/mL, lo que indica una rápida activación del metabolismo reproductivo (Figura 9). Este tipo de respuesta temprana se ha asociado con la disponibilidad de carbohidratos simples y fácilmente asimilables presente en sustratos como PDB, que favorecen una transición rápida desde el crecimiento vegetativo hacia la conidiación en hongos filamentosos (Canteri & Ghoul, 2015).

Luego, en el día 4 se registró un descenso hasta  $6.17 \times 10^6$  UFC/mL, seguido de un nuevo incremento hacia el día 7 hasta  $8.38 \times 10^6$  UFC/mL. Esto puede estar relacionado con un

patrón de conidiación intensa, seguida por una etapa de consumo de nutrientes y posible germinación de parte de las esporas producidas, lo cual reduce el número de Unidades Formadora de Colonia, sin reducir la biomasa total, fenómeno ya descrito en cultivos sumergido de *Penicillium* y otros hongos filamentosos (Papagianni, 2004).

El posterior aumento hacia el día 7 puede relacionarse con la activación de rutas metabólicas secundarias y a la capacidad del micelio de reiniciar la conidiación cuando aún persiste una fracción de carbono y nitrógeno aprovechable, como ya ha sido reportado en investigaciones sobre la producción de esporas en medios líquidos (Canteri & Ghoul, 2015).

A partir del día 7, la concentración de esporas en PDB disminuyó progresivamente hasta estabilizarse en valores cercanos a  $4.50 \times 10^6$  UFC/mL hacia el día 21, lo que es concordante con una fase estacionaria prolongada. En esta etapa suelen coincidir el agotamiento de nutrientes limitantes la acumulación de metabolitos secundarios y también la autólisis parcial del micelio (Vrabl et al., 2019).

En EM, la cepa PP2 presentó un patrón simple respecto a su esporulación, presentó un único pico de esporulación en el día 4 con  $1.25 \times 10^7$  UFC/mL, seguido de una tendencia descendente hasta el día 21 con valores cercanos a  $4.40 \times 10^6$  UFC/mL. La composición nutricional compleja de EM pudo haber ralentizado la conidiación hacia el cuarto día, para luego entrar en una fase estacionaria en la producción y germinación de esporas (Gutiérrez et al., 2015).

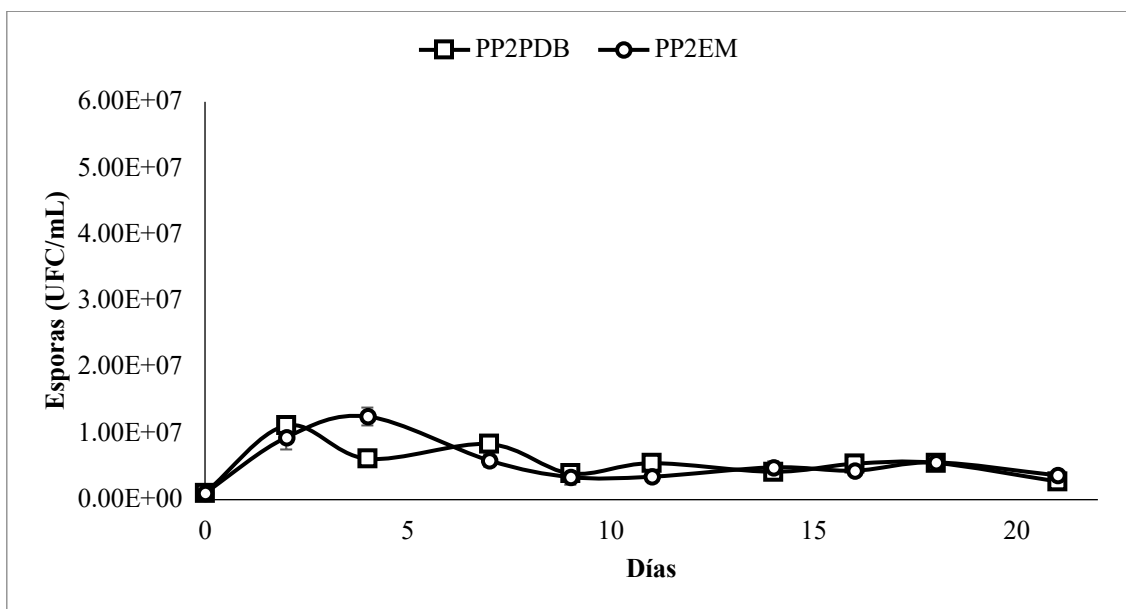
También puede que la tendencia a la baja en la concentración de esporas, este relacionada a un agotamiento nutricional en el medio (Canteri & Ghoul, 2015). Varios estudios han relacionado la generación de conidios y la producción de metabolitos bioactivos con las condiciones nutricionales en las que se desarrolla el microorganismo, en particular se ha demostrado que la producción de griseofulvina, una molécula bioactiva con propiedades antibacterianas, depende de la conidiación y virulencia en *Penicillium* (Valente et al., 2020).

En conjunto, ambos medios permitieron la esporulación de la cepa PP2, sin embargo, PDB favoreció una activación reproductiva más dinámica y modulada en el tiempo, mientras que

EM indujo una respuesta más simple y descendente, por lo que PDB resultó más favorable para sostener la actividad reproductiva en cultivos prolongados.

### Figura 9.

Esporulación de la cepa PP2 (*Penicillium griseofulvum*) a lo largo de 21 días



#### 4.2.7. Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa PP4 (*Rhizopus sp.*)

La cepa PP4, mostró un patrón de esporulación relativamente estable en ambos medios de cultivo, con variaciones sutiles en comparación con las demás cepas evaluadas. Este comportamiento es coherente con lo reportado para otras especies de *Rhizopus* en cultivos sumergidos, donde la producción de esporas tiende a ser limitada y más sensible a condiciones nutricionales y ambientales específicas, como la disponibilidad de nitrógeno, la concentración de carbono y las condiciones físicas del cultivo (Papadaki et al., 2017).

En PDB, inicialmente se presentó una baja concentración de esporas de  $4.88 \times 10^6$  UFC/mL en el día 2. Posterior a ellos entre los días 4 y 14, los valores se mantuvieron relativamente estables alrededor de  $5.1 \times 10^6$  UFC/mL, lo que sugiere que el medio de cultivo impulso un desarrollo vegetativo con esporulación limitada o reducida (Papagianni, 2004). El incremento progresivo observado a partir del día 16 con  $6.88 \times 10^6$  UFC/mL y el pico de esporulación en el día 18 con  $9.58 \times 10^6$  UFC/mL (Figura 10), pueden relacionarse con la transición del micelio

hacia fases fisiológicas más maduras, donde ciertas especies de *Rhizopus* pueden activar rutas de generación de estructuras reproductivas de manera tardía cuando existe un balance de nutrientes residuales y condiciones de estrés moderado (Lu et al., 2024).

Finalmente, en el día 21 se registró una disminución de la esporulación hasta  $7.29 \times 10^6$  UFC/mL, lo que sugiere la entrada del sistema en una fase estacionaria avanzada, donde el agotamiento progresivo de nutrientes, la acumulación de metabolitos secundarios y el envejecimiento micelial limitan la continuidad de la producción de esporas.

En cultivos líquidos prolongados de hongos filamentosos, como *Rhizopus* se ha descrito que la estabilidad esporulativa se ve comprometida a medida que la morfología del pellet se vuelve menos favorable para el transporte de oxígeno y nutrientes, lo que suele traducirse en una menor capacidad de renovación de estructuras reproductivas (Veiter et al., 2018).

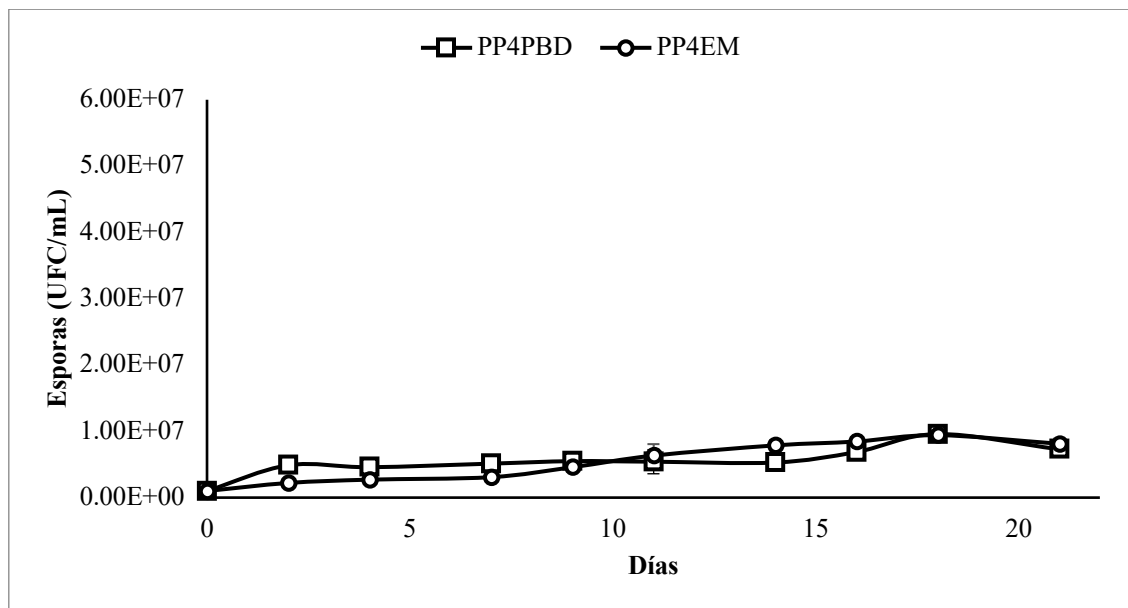
En EM se presentaron valores más estables que en PDB, desde el día 2 hasta el 9 la concentración se mantuvo cercana a  $3.1 \times 10^6$  UFC/mL, indicando un nivel basal de esporulación constante. Este comportamiento puede atribuirse a la naturaleza compleja del extracto de malta, que ofrece nutrientes que pueden llegar a incentivar la conidiación, sin embargo, en *Rhizopus* suele ser necesario la acción de señales específicas para inducir la formación de estructuras reproductivas (Meussen et al., 2012).

Entre los días 11 y 18 se observó un incremento leve hasta  $8.0 \times 10^6$  UFC/mL, lo que significa un único pico de esporulación tardío, menos pronunciado que el observado en PDB, pero consistente con reportes de esporulación inducida por envejecimiento del cultivo. La formación de esporangiosporos tardíos puede presentarse en *Rhizopus* cuando existe una baja disponibilidad de nutrientes y la densidad celular aumenta (Lu et al., 2024).

En resumen, ambos medios permitieron una esporulación moderada y relativamente estable de la cepa PP4, sin embargo, PDB favoreció una esporulación ligeramente mayor en etapas tardías, mientras que EM mantuvo una producción más baja pero constante, sin evidenciar ventajas claras de uno u otro medio para la inducción sostenida de estructuras reproductivas.

**Figura 10.**

*Esporulación de la cepa PP4 (Rhizopus sp.) a lo largo de 21 días*



#### **4.2.8. Influencia del medio de cultivo en la dinámica de esporulación de la cepa MQ1 (*Mucor hiemalis*)**

La cepa MQ1, exhibió un comportamiento de esporulación muy distinta entre los medios de cultivo EM y PDB. Este contraste parece evidenciar que la cinética reproductiva en especies del orden Mucorales depende fuertemente de la composición química y física del medio de cultivo, fenómeno ampliamente documentado para géneros como *Mucor*, *Rhizopus* y *Lichtheimia*, cuya esporulación en condiciones sumergidas es altamente sensible a la disponibilidad de carbono y nitrógeno (Patiño-Medina et al., 2021).

En EM, la cepa MQ1 alcanzó un pico temprano de  $4.9 \times 10^7$  UFC/mL en el día 2, seguido de una disminución drástica a  $1.08 \times 10^7$  UFC/mL en el día 4 y una tendencia descendente continua hasta  $5.6 \times 10^6$  UFC/mL en el día 21 (Figura 11). Este comportamiento es consistente con la fisiología descrita para otras especies de *Mucor*, en donde sustratos complejos como EM inducen a una rápida activación metabólica, lo que favorece a una esporulación temprana (Patiño-Medina et al., 2021).

El descenso presentado a partir del día 4 puede estar relacionado a un agotamiento acelerado de nutrientes disponibles, provocando el fin de la fase exponencial y entrando probablemente

a una etapa estacionaria en la producción de conidios (Gibbs et al., 2000). Otro motivo para el pronunciado declive puede estar relacionado a la autólisis micelial, observada en cultivos sumergidos de mucorales cuando se alcanzan altas densidades celulares (Znidarsic, 2001).

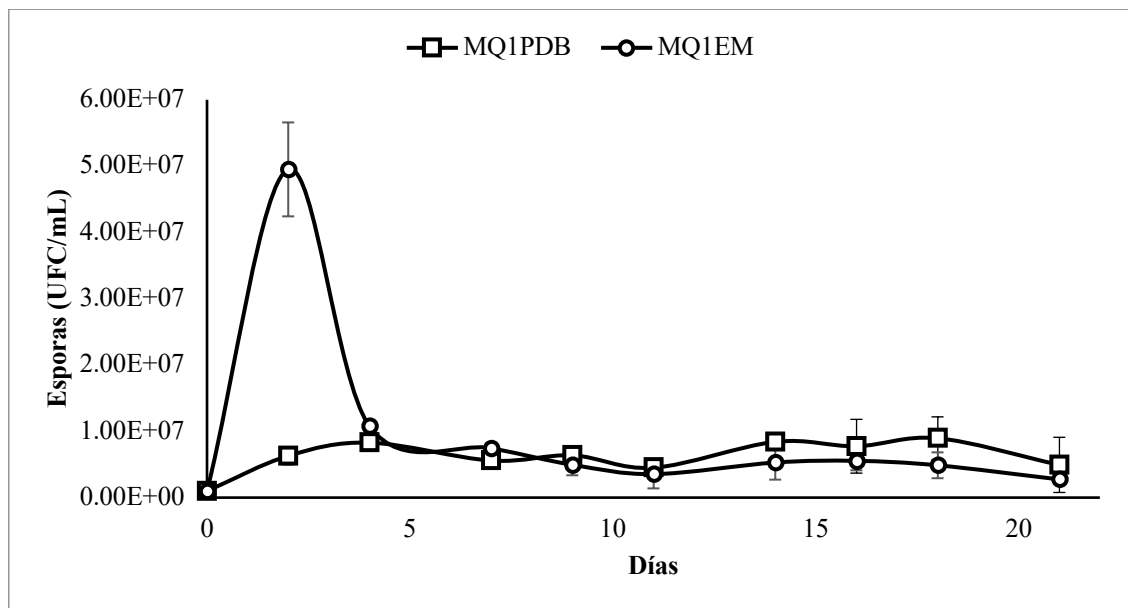
En PDB, se presentó un patrón oscilante sin picos marcados, manteniendo valores relativamente estables alrededor de  $6.7 \times 10^6$  UFC/mL entre los días 2 y 21. La ausencia de un pico temprano sugiere que PDB no induce un estímulo reproductivo oportuno, si no que favorece un metabolismo orientado al crecimiento vegetativo.

Esto es coherente con estudios donde se demostró que medios ricos en carbohidratos simples promueven la formación de biomasa micelial en lugar de la formación de estructuras reproductivas en hongos filamentosos (García-Rico & Fierro, 2017). También la concentración predominante de glucosa en PDB puede sostener una fase estacionaria prolongada, retrasando la activación de procesos de conidiación (Papagianni, 2004).

En resumen, el medio EM resultó efectivo para inducir una esporulación temprana y de alta magnitud en la cepa MQ1, aunque poco estable en el tiempo, mientras que PDB favoreció una esporulación baja pero sostenida, orientada al crecimiento vegetativo, por tanto, EM fue más adecuado para inducir conidiación rápida y PDB para mantener estabilidad fisiológica del cultivo.

**Figura 11.**

*Esporulación de la cepa MQ1 (Mucor hiemalis) a lo largo de 21 días*



### 4.3. Pruebas antimicrobianas con extractos de hongos del páramo

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos extracelulares obtenidos de las cepas MP3 y PP3, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 1026. Estos fueron cultivados en PDA, medio que previamente demostró un mayor rendimiento de biomasa en comparación con EM. No se detectaron halos de inhibición bajo ninguna de las dosis de extracto (50 y 100 mg/mL), lo que indica una ausencia de actividad antibacteriana detectable frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 1026 (Figura 12 y Figura 13).

#### 4.3.1. Pruebas antimicrobianas con extracto de la cepa PP3 (*Aspergillus* sp.)

La cepa PP3 fue relacionada en investigaciones previas al género *Aspergillus*, esto vuelve llamativa la ausencia de actividad antibacteriana del extracto, ya que el género es reconocido como una de las fuentes fúngicas más prolíficas de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana (Rahman & Mathur, 2022). Varios de los metabolitos secundarios del género presentan carácter apolar o de polaridad intermedia, por lo cual muestran una mayor afinidad por solventes orgánicos como el acetato de etilo (Gonzalez-Pastor et al., 2023). Implicando que los metabolitos se hayan retenido en la biomasa micelial (Song et al., 2021), o en la fase

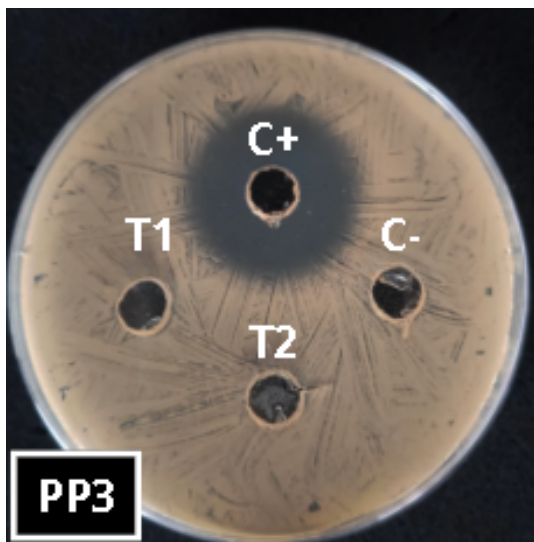
hidrofóbica no recuperada durante la obtención del extracto, ya que se recuperó y concentró únicamente la fase polar del cultivo (Kalyani et al., 2023).

Adicional a ello, un desarrollo vegetativo eficiente, como fue el caso de PDB, no implica directamente una producción óptima de metabolitos secundarios. La biosíntesis de metabolitos fúngicos es altamente dependiente de las condiciones de cultivo como el tipo de sustrato y la complejidad química de estos, oxigenación, tiempo de incubación, entre otros (Song et al., 2021). Es posible que PP3 no lograra expresar sus rutas biosintéticas asociadas a compuestos antibacterianos debido al sustrato y/o las condiciones de cultivo.

Por otro lado, la técnica de difusión en agar mediante pocillos puede presentar limitaciones al evaluar extractos crudos, lo que podría llevar a una subestimación de su actividad biológica. La difusión de los compuestos en el agar está influenciada por características fisicoquímicas como el tamaño molecular y la polaridad, en este sentido, moléculas poco polares o de mayor peso molecular pueden presentar una difusión restringida. Esta condición puede traducirse en halos de inhibición reducidos o no detectables, aun cuando existan compuestos bioactivos presentes en el extracto, debido a que estos no logran difundirse de manera eficiente en la matriz del agar (Bubonja-Šonje et al., 2020).

## Figura 12.

Dilución en pocillos de extracto extracelular de la cepa PP3.



**Nota:** Extracto de la cepa PP3; T1 = 100 mg/mL; T2 = 50 mg/mL; C+ = Cloranfenicol (1 mg/mL); C- = Agua destilada estéril.

### 4.3.2. Pruebas antimicrobianas con extracto de la cepa MP3 (*Microsporum* sp.)

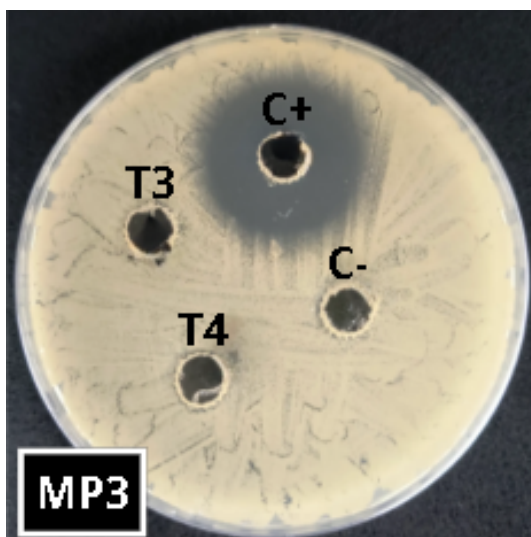
La cepa MP3 en investigaciones anteriores ha sido relacionada al género *Microsporum*, por lo cual la ausencia de actividad frente a *S. aureus* puede interpretarse como parte de su biología particular. Los dermatofitos usualmente son asociados a infecciones cutáneas, por ende estos disponen de un repertorio metabólico enfocado a la degradación de queratina y a la interacción con tejidos animales, más que a la producción de metabolitos secundarios con función antibacteriana (Cruz Ch. & Vielle O., 2024; Vite-Garín et al., 2024).

Adicional a ello, y similar a PP3, un desarrollo óptimo de estructuras vegetativas no implica directamente una amplia producción de metabolitos bioactivos (Song et al., 2021). Generalmente en dermatofitos los factores de virulencia y producción de metabolitos secundarios se ven estimulados en presencia de sustratos ricos en queratina o ambientes similares a un hospedero (Ciesielska et al., 2021). Medios ricos en nutrientes simples como PDA tienden a priorizar el desarrollo vegetativo frente a la síntesis de moléculas con potencial antimicrobiano (Papagianni, 2004). Esto sugiere que MP3 pudo mantenerse en un estado metabólico basal, sin inducir la expresión de moléculas bioactivas.

Finalmente, se debe considerar la naturaleza química de los posibles compuestos bioactivos, estudios realizados con hongos endofíticos han demostrado que los extractos obtenidos con solventes orgánicos como acetato de etilo logran recuperar compuesto con actividad antimicrobiana frente a Gram positivas y Gram negativas (Kumari et al., 2021). Al haber recuperado la fase polar, se pudo discriminar metabolitos apolares con una posible bioactividad antibacteriana (Wadhwa et al., 2024).

**Figura 13.**

*Dilución en pocillos de extracto extracelular de la cepa MP3.*



**Nota:** Extracto de la cepa MP3; T3 = 100 mg/mL; T4 = 50 mg/mL; C+ = Cloranfenicol (1 mg/mL); C- = Agua destilada estéril.

## CAPITULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- El medio Caldo Papa Dextrosa (PDB) se estableció como el cultivo líquido más eficiente para el crecimiento de los hongos del páramo, evidenciando los mayores rendimientos de biomasa seca en las cepas MP3 (1.81 mg/mL) y PP3 (1.28 mg/mL). Sin embargo, la cinética de esporulación demostró que la formación de conidios no es un indicador confiable de adaptabilidad ni un parámetro útil para evaluar el establecimiento de cultivos líquidos, dado que el PDB favoreció el crecimiento vegetativo sin necesariamente estimular la conidiación y también que algunas cepas mostraron patrones discordantes entre esporulación y producción de biomasa.
- Los extractos extracelulares obtenidos de las cepas con mayor crecimiento (MP3 y PP3) no presentaron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 1026 en concentraciones de 50 y 100 mg/mL, lo que indica que, bajo las condiciones evaluadas, la producción de biomasa no se correlaciona con la síntesis de metabolitos secundarios con efecto antimicrobiano.

#### 5.2. Recomendaciones

- Para una caracterización más completa del potencial bioactivo de las cepas, se recomienda incluir en futuros estudios tanto los metabolitos intracelulares derivados del micelio como las fracciones apolares obtenidas mediante solventes orgánicos como el acetato de etilo (Cepeda, 2010), con el fin de no limitar el análisis a los compuestos extracelulares hidrofílicos.
- Dado que el medio PDB mostró ser el más adecuado para el crecimiento, se sugiere emplearlo en ensayos posteriores orientados a estimular la producción de metabolitos secundarios mediante técnicas de elicitación (variación de pH, radiación UV, fuentes alternativas de carbono o nitrógeno, o adición de compuestos inductores), siguiendo enfoques como *One Strain–Many Compounds (OSMAC)* (Romano et al., 2018).
- Considerando que los ensayos fueron realizados en condiciones estáticas, se recomienda evaluar el comportamiento de las mismas cepas bajo condiciones

dinámicas, incorporando agitación y aireación controlada, para determinar su efecto en el crecimiento, la esporulación y la biosíntesis de metabolitos secundarios.

## 6. Referencias

- Aguila, R., Pacios-Michelena, S., Gómez-Santiesteban, E., González-Pardo, G., Jurado-Sánchez, R., Rojas-Núñez, H., & Michelena-Álvarez, G. (2025). *Producción de metabolitos para el control biológico de microorganismos fitopatógenos*. <https://www.revista.icidca.azcuba.cu/wp-content/uploads/2025/03/articulo-7.pdf>
- Albán, Y. C. (2024). *Estudio de la microbiota fúngica asociada a la vegetación indicadora de arbustales xéricos interandinos de tres localidades del Ecuador*. <https://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/23515>
- Alfaro, P. A. (2023). *Propagación vegetativa de Guadua angustifolia K., Bambusa vulgaris var. vittata A. y Bambusa tuldoidea m. en el vivero del fundo San José, provincia de Chanchamayo–Junín*. <https://hdl.handle.net/20.500.14292/2599>
- Alhaidari, R. A. A. (2013). *Secondary metabolites from Xylariaceae fungi. The isolation and structure elucidation of secondary metabolites from Xylariaceae fungi by chemical and spectroscopic methods*. <https://bradscholars.brad.ac.uk/handle/10454/5705>
- Alharbi, S. A., Wainwright, M., Alahmadi, T. A., Salleeh, H. Bin, Faden, A. A., & Chinnathambi, A. (2014). What if Fleming had not discovered penicillin? *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(4), 289–293. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.12.007>
- Arapa, J. J. (2023). *Revisión bibliográfica de la capacidad antagónica del hongo Trichoderma sp. frente a los fitopatógenos que afectan a los cultivos de importancia económica del Perú*. <https://hdl.handle.net/20.500.12920/13373>
- Arias, E. L., & Piñeros, P. A. (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestra de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde*. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8233>
- Atallah, O. O., Mazrou, Y. S. A., Atia, M. M., Nehela, Y., Abdelrhim, A. S., & Nader, M. M. (2022). Polyphasic Characterization of Four Aspergillus Species as Potential Biocontrol Agents for White Mold Disease of Bean. In *Journal of Fungi* (Vol. 8, Issue 6, p. 626). <https://doi.org/10.3390/jof8060626>
- ATCC. (2023). *Mycology culture guide*. <https://www.atcc.org/resources/culture-guides/mycology-culture-guide?>
- Atlas, R. M. (2010). *Handbook of microbiological media, fourth edition* (4th ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/ebk1439804063>
- Balla, C. (2024). *Estudio de la diversidad florística del páramo de Navag, sector Quillоторo, cantón Colta, provincia de Chimborazo*. <https://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/23385>
- Barriuso, J., Hogan, D. A., Keshavarz, T., & Martínez, M. J. (2018). Role of quorum sensing and chemical communication in fungal biotechnology and pathogenesis. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(5), 627–638. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy022>

- Bennett, J. W., & Chung, K.-T. B. T.-A. in A. M. (2001). *Alexander Fleming and the discovery of penicillin* (Vol. 49, pp. 163–184). Academic Press.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(01\)49013-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2164(01)49013-7)
- Bernal Lozano, S. L. (2021). *Comunidades fúngicas presentes en la necromasa de espeletia grandiflora y en las plantas acompañantes en el páramo de Ocetá, Boyacá, Colombia.*
- Bubonja-Šonje, M., Knežević, S., & Abram, M. (2020). Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant-derived polyphenolic compounds. *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 71(4), 300–311. <https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3396>
- Buytaert, W., Célleri, R., De Bièvre, B., & Cisneros, F. (2006). Hidrología del páramo andino: propiedades, importancia y vulnerabilidad. *Cuenca. Recuperado: Http://Www.Paramo.Org/Files/Hidrologia\_paramo.Pdf.*
- Cabrera, H., & Gabriela, M. (2015). *Establecimiento de condiciones de cultivo en laboratorio del hongo Pleurotus djamor para la producción de metabolitos con posible aplicación terapéutica [UNIVERSIDAD TECNICA PARTICULAR DE LOJA]*. <https://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/13382>
- Cairns, T. C., Zheng, X., Zheng, P., Sun, J., & Meyer, V. (2019). Moulding the mould: understanding and reprogramming filamentous fungal growth and morphogenesis for next generation cell factories. *Biotechnology for Biofuels*, 12(1), 77. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1400-4>
- Canteri, H., & Ghoul, M. (2015). Submerged Liquid Culture for Production of Biomass and Spores of Penicillium. *Food Reviews International*, 31, 150213110327000. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1015136>
- Cárdenas, C. A., & Espinoza, M. D. (2024). *Revisión sistemática de métodos de extracción y técnicas de tamizaje fitoquímico para cinco metabolitos secundarios de especies vegetales.*
- Cepeda, D. L. M. (2010). *DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS A PARTIR DE LA CEPA NATIVA CV15Nd AISLADA DEL PÁRAMO CRUZ VERDE, DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA [PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA]*. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8836/tesis780.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chambers, H. F., & DeLeo, F. R. (2009). Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9), 629–641. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2200>
- Ciesielska, A., Kawa, A., Kanarek, K., Soboń, A., & Szewczyk, R. (2021). Metabolomic analysis of Trichophyton rubrum and Microsporum canis during keratin degradation. *Scientific Reports*, 11(1), 3959. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83632-z>
- Córdova, L. J. (2022). *Caracterización de hongos asociados a la rizosfera de Vaccinium floribundum del páramo de Cubillín, cantón Chambo, provincia de Chimborazo.* <https://dspace.epoch.edu.ec/handle/123456789/17675>

- Correia, J., Borges, A., Simões, M., & Simões, L. C. (2023). Beyond Penicillin: The Potential of Filamentous Fungi for Drug Discovery in the Age of Antibiotic Resistance. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(8).  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12081250>
- Cruz Ch., R., & Vielle O., P. (2024). Actualización en taxonomía, diagnóstico y tratamiento de las dermatofitosis . In *Revista chilena de infectología* (Vol. 41, pp. 218–224). scielocl .
- Delgado-Fernández, E., Nicola, L., Covarrubias, S. A., Girometta, C. E., & Valdez-Tenezaca, A. (2024). Fungal Diversity in an Undisturbed Andean Páramo Soil in Quimsacocha (Ecuador). In *Journal of Fungi* (Vol. 10, Issue 9, p. 623).  
<https://doi.org/10.3390/jof10090623>
- Delgado, H. D., & Gutiérrez, L. V. (2022). Hongos micorrizas arbusculares: la simbiosis de los múltiples beneficios. *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 12(2 SE-Artículos científicos de revisión), 2–14. <https://doi.org/10.5377/elhigo.v12i2.15196>
- Fajardo, Á. L., Méndez-Casallas, F. J., Hernández-Niño, J. F., Molina, L. H., Milena Tarazona, A., Nossa, C., Tejeiro, J. L., & Ramírez, N. (2013). La automedicación de antibióticos: un problema de salud pública. *Salud Uninorte*, 29(2), 226–235.  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81730430008>
- Farinango, J. A., & López, T. E. (2022). *Evaluación de una estrategia de biorremediación de suelos de páramo afectados por incendio mediante consorcios de microorganismos nativos del Parque Nacional Cayambe Coca*.  
<http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/13309>
- Faway, E., Staerck, C., Danzelle, C., Vroomen, S., Courtain, C., Mignon, B., & Poumay, Y. (2021). Towards a Standardized Procedure for the Production of Infective Spores to Study the Pathogenesis of Dermatophytosis. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/jof7121029>
- Fernández, F., & Román, D. (2022). *Exploración de posibles impactos ecológicos por deposición de nitrógeno reactivo sobre las comunidades de líquenes en ecosistemas de páramo*. <https://repository.eafit.edu.co/server/api/core/bitstreams/a4dc3b80-9e9e-4038-a127-a4a933bca0a8/content>
- Fitriana, Y., Suharjo, R., Swibawa, I. G., Lestari, P., & Merdiana, E. (2018). Influence of Culture Medium on the Sporulation and Viability of *Aspergillus* spp. and *Talaromyces* spp. Entomopathogenic Fungi. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 18(2), 12–22.
- Franklin, L. (2025). Staphylococcus aureus Infections. *New England Journal of Medicine*, 339(8), 520–532. <https://doi.org/10.1056/NEJM199808203390806>
- Gaitan, M. (2018). *Identificación de hongos asociados a lesiones de frailejones (Espeletia spp.) en páramos de Cundinamarca* [PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA].  
<https://apidspace.javeriana.edu.co/server/api/core/bitstreams/ac599a17-6e18-4fc7-96ca-25e5fcb87a88/content>

- Gao, L., Sun, M. H., Liu, X. Z., & Che, Y. S. (2007). Effects of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. *Mycological Research*, 111(1), 87–92. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.07.019>
- García-Reyes, M., Beltrán-Hernández, R. I., Vázquez-Rodríguez, G. A., Coronel-Olivares, C., Medina-Moreno, S. A., Juárez-Santillán, L. F., & Lucho-Constantino, C. A. (2017). Formation, morphology and biotechnological applications of filamentous fungal pellets: a review. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(3), 703–720.
- García-Rico, R. O., & Fierro, F. (2017). Papel de las subunidades alfa de proteínas G en los procesos morfogénicos de hongos filamentosos de la división Ascomycota. *Revista Iberoamericana de Micología*, 34(1), 1–9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.06.005>
- García, E. D., Valenzuela-Quintanar, A. I., Troncoso-Rojas, R., González-Mendoza, D., & Tiznado-Hernández, M. E. (2022). *Metabolitos Bioactivos De Trichoderma Para El Control De Hongos Postcosecha En Frutas Y Hortalizas*. California: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo Instituto ...
- García, M., & Díaz, E. (2023). Resiliencia y resistencia bacteriana: ¿Qué debemos saber? *Milenaria*, 21, 13–15. <https://doi.org/10.35830/mcya.vi21.347>
- Geib, E., Gressler, M., Viediernikova, I., Hillmann, F., Jacobsen, I. D., Nietzsche, S., Hertweck, C., & Brock, M. (2016). A Non-canonical Melanin Biosynthesis Pathway Protects *Aspergillus terreus* Conidia from Environmental Stress. *Cell Chemical Biology*, 23(5), 587–597. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2016.03.014>
- Gibbs, P. A., Seviour, R. J., & Schmid, F. (2000). Growth of filamentous fungi in submerged culture: problems and possible solutions. *Critical Reviews in Biotechnology*, 20(1), 17–48. <https://doi.org/10.1080/07388550091144177>
- Gómez, G. C. D. (2011). *EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS OBTENIDOS POR FERMENTACIÓN EN MEDIO LIQUIDO DE UNA CEPA DE Aspergillus sp. NATIVA DEL PÁRAMO DE GUASCA, CUNDINAMARCA* [PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA]. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8824/tesis770.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gonzalez-Pastor, R., Carrera-Pacheco, S. E., Zúñiga-Miranda, J., Rodríguez-Pólit, C., Mayorga-Ramos, A., Guamán, L. P., & Barba-Ostria, C. (2023). Current Landscape of Methods to Evaluate Antimicrobial Activity of Natural Extracts. *Molecules*, 28(3). <https://doi.org/10.3390/molecules28031068>
- González, M. D. (2024). *Estudio de macrohongos epífitos en el entorno arbóreo de la finca “La Franja”, vereda Vianicito, Vianí Cundinamarca*. <http://hdl.handle.net/11349/93890>
- Góralaska, K., Błaszowska, J., & Dzikowiec, M. (2020). The occurrence of potentially pathogenic filamentous fungi in recreational surface water as a public health risk. *Journal of Water and Health*, 18(2), 127–144. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.096>

- Guerrero, M. J., & Quinteros, S. A. (2022). *Evaluación de la actividad antimicrobiana y antifúngica de 4-terpineol,  $\beta$ -EUDESMOL, TIMOL, CITRAL Y TRANS-2-DODECENAL, moléculas puras de aceites esenciales* [Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/26729>
- GutierrÃ, I., Tibasosa-RodrÃguez, G., Moreno-Sarmiento, N., RodrÃguez-Bocanegra, M. X., & Montoya, D. (2015). Carbon and nitrogen sources differently influence *Penicillium* sp. HC1 conidiation in solid and liquid culture. *African Journal of Microbiology Research*, 9(47), 2290–2299.
- Gutiérrez, S., Casqueiro, J., & Martín, J. F. (2000). Los hongos como factorías celulares: biodiversidad de metabolitos secundarios. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17, 554–560.
- Hoque, E., & Fritscher, J. (2019). Multimetal bioremediation and biomining by a combination of new aquatic strains of *Mucor hiemalis*. *Scientific Reports*, 9(1), 10318. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46560-7>
- Ibrahim, D., Weloosamy, H., & Lim, S.-H. (2015). Effect of agitation speed on the morphology of *Aspergillus niger* HFD5A-1 hyphae and its pectinase production in submerged fermentation. *World Journal of Biological Chemistry*, 6(3), 265–271. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v6.i3.265>
- Jara, A. A. (2011). *Fundamentos y aplicaciones de transferencia de masa*.
- Jia, S., Li, C., An, Y., & Qi, D. (2024). Study on the metabolic changes and regulatory mechanism of *Aspergillus flavus* conidia germination. *Microbiology Spectrum*, 12(9), e0010824. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00108-24>
- Jiménez, R., Ramírez Herrera, Á. D., Orozco Ceja, J. A., & González Domínguez, M. I. (2023). Biosíntesis de nanopartículas de plata con actividad antimicrobiana por *Pseudomonas aeruginosa* ambiental. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 17(32 SE-Artículos de investigación), 1e-13e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2024.32.69721>
- Kalyani, P., Botsa, S. M., Divya Laxmi, K. V., & Anil, S. (2023). Optimization of cultural conditions for biomass and antibacterial metabolite production by *Aspergillus fumigatus* strain MF1. *Hybrid Advances*, 2, 100016. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.hybadv.2022.100016>
- Kanazawa, S. (2024). Aplicaciones de los Metabolitos Secundarios Generados por *Bacillus Subtilis* en el Periodo 2002 – 2022. *Ciencia Latina*, 8(5), 529–541. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v8i5.13362](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i5.13362)
- Kavanagh, K. (2017). *Fungi: biology and applications*. John Wiley & Sons.
- Kumari, P., Singh, A., Singh, D. K., Sharma, V. K., Kumar, J., Gupta, V. K., Bhattacharya, S., & Kharwar, R. N. (2021). Isolation and purification of bioactive metabolites from an endophytic fungus *Penicillium citrinum* of *Azadirachta indica*. *South African Journal of Botany*, 139, 449–457. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.02.020>

- Kunert, J. (1972). The digestion of human hair by the dermatophyte *Microsporum gypseum* in a submerged culture. *Mycoses*, 15(2), 59–71.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1972.tb02451.x>
- Laura, J., & Castellanos, P. (2009). Hongos filamentosos con actividades ligninolíticas aislados de *Calamagrostis nitidula* Pilg. *Rev. Peru. Biol.*, 16(1), 125–128.  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332009000100018](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332009000100018)
- León, J., Márquez Pallares, L., & Hernández Degante, D. M. (2024). Evaluación de residuos agroindustriales para la producción de esporas de hongos filamentosos: Evaluation of agroindustrial waste for the production of spores of filamentous fungi. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, 5(6).  
<https://doi.org/10.56712/latam.v5i6.3131>
- Lilli, A. J. (2021). *Estudio de la esporulación del microsporidio Nosema spp en Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae) en primavera en un colmenar en la ciudad de La Plata*. Universidad Nacional de La Plata.
- López, T. de L. Á., Páramo Aguilera, L. A., & Delgado Silva, H. D. (2022). Reproducción masiva de hongos trichodermas previamente identificados de suelos Nicaragüenses en diferentes sustratos orgánicos. *Nexo Rev. Cient.*, 35(03), 700–712.  
<https://doi.org/10.5377/nexo.v35i03.15000>
- Lu, Z., Chen, Z., Liu, Y., Hua, X., Gao, C., & Liu, J. (2024). Morphological Engineering of Filamentous Fungi: Research Progress and Perspectives. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(6), 1197–1205. <https://doi.org/10.4014/jmb.2402.02007>
- Mascarin, G. M., Golo, P. S., de Souza Ribeiro-Silva, C., Muniz, E. R., de Oliveira Franco, A., Kobori, N. N., & Fernandes, É. K. K. (2024). Advances in submerged liquid fermentation and formulation of entomopathogenic fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 451. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13287-z>
- Mena, Y. C., Ramírez, L. S., & Arango, Á. M. (2021). Actividad antibacteriana y antioxidante del hongo *Phanerochaete* spp. *CIT Inform. Tecnol.*, 32(1), 69–78.  
<https://doi.org/10.4067/s0718-07642021000100069>
- Mendoza, G., & Nélide, N. (2024). *Producción de celulasas y xilanasas de Aspergillus niger en tres sistemas de fermentación*.  
<http://45.231.83.156/handle/20.500.12996/6555>
- Meussen, B. J., de Graaff, L. H., Sanders, J. P. M., & Weusthuis, R. A. (2012). Metabolic engineering of *Rhizopus oryzae* for the production of platform chemicals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(4), 875–886. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4033-0>
- Miranda, L. G. (2024). *Control farmacocinético en la liberación de antimicrobianos desde apósitos avanzados y desde nanopartículas dirigidas: Evaluación de su eficacia bactericida en heridas tópicas infectadas - Universidad de Zaragoza Repository*.  
<https://zaguan.unizar.es/record/135448>

- Montalba, J. P. V. (2022). *Desarrollo de una estrategia tecnológica y de negocio para la producción de celulosa bacteriana en un biorreactor de disco rotatorio* [UNIVERSIDAD SAN SEBASTIAN]. <https://repositorio.uss.cl/handle/uss/8640>
- Moore-Landecker, E. (2011). Fungal Spores. In *Encyclopedia of Life Sciences*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000378.pub2>
- Narváez, M. de J., Mendoza López, M. R., Sánchez Viveros, G., Almaraz Suarez, J. J., & Argumedo Delira, R. (2023). Actividad inhibitoria de extractos alcohólicos de hongos comestibles contra *Rhizoctonia solani*. *Rev. Mex. De Cienc. Agric.*, *14*(4), 615–625. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i4.3200>
- Nasamuez, J. del R. (2024). *Composición florística de la vegetación de almohadilla en tres ecosistemas de páramos andinos ecuatorianos*. <https://dspace.espoeh.edu.ec/handle/123456789/23354>
- Navarro, L., Salinas-Castro, A., & Trigos, Á. (2022). Hongos endófitos aislados de Manilkara zapota y su actividad antibacteriana y antifúngica. *Sci. Fungorum*, *53*, e1407. <https://doi.org/10.33885/sf.2022.53.1407>
- Ocampo, A. (2011). *Obtención de metabolitos secundarios a partir de fermentación líquida de una cepa nativa aislada del páramo de Guasca, Cundinamarca de Mucor circinelloides y evaluación de su actividad antimicrobiana* [Pontificia Universidad Javeriana]. <http://hdl.handle.net/10554/3840>
- Papadaki, A., Androutsopoulos, N., Patsalou, M., Koutinas, M., Kopsahelis, N., Castro, A. M., Papanikolaou, S., & Koutinas, A. A. (2017). Biotechnological Production of Fumaric Acid: The Effect of Morphology of *Rhizopus arrhizus* NRRL 2582. In *Fermentation* (Vol. 3, Issue 3, p. 33). <https://doi.org/10.3390/fermentation3030033>
- Papagianni, M. (2004). Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnology Advances*, *22*(3), 189–259. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.09.005>
- Patiño-Medina, J. A., Alejandro-Castañeda, V., Valle-Maldonado, M. I., Villegas, J., Ramírez-Díaz, M. I., Ortiz-Alvarado, R., & Meza-Carmen, V. (2021). Mass spore production of *Mucor circinelloides* on rice. *3 Biotech*, *11*(7), 311. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02853-1>
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2022). *Fungi and food spoilage* (4th ed.). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-85640-3>
- Plata, M., Pérez, Z., Lacayo Romero, M., & Gazo, G. (2021). Viabilidad de esporas de *Aspergillus awamori* inmovilizado en Criogeles. *Rev. Torreón Univ.*, *10*(29), 129–135. <https://doi.org/10.5377/rtu.v10i29.12739>
- Quispe, I. J., Palomino Pariona, J. R., & Corvacho Ticona, J. K. (2024). Producción de biomasa de *Aspergillus oryzae* en orujo de uva y harina de soja mediante fermentación en estado sólido. *INGENIERÍA INVESTIGA*, *6*. <https://doi.org/10.47796/ing.v6i00.1092>
- Rahman, R. U., & Mathur, G. (2022). Effect of Different Media on Growth Kinetics

- Parameters of *Aspergillus ochraceus*: an Approach Towards Production of Fungal Biomass. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 15(6 SE-Research Paper), 1–3. <https://doi.org/10.5530/ctbp.2021.6.1>
- Redrado, S., Pardo Jimeno, J., & Galvez Buerba, E. M. (2023). *Desarrollo de inmunoterapia basada en nanobodies frente a glucanosiltransferasas para el tratamiento de infecciones fúngicas invasivas* [Universidad de Zaragoza]. <https://zaguan.unizar.es/record/135277>
- Richardson, M. D., & Rautemaa-Richardson, R. (2019). Biotic Environments Supporting the Persistence of Clinically Relevant Mucormycetes. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 6(1). <https://doi.org/10.3390/jof6010004>
- Robinson, H.-F., Guamán-Rivera, S. A., de Lourdes Correa-Salgado, M., Carrion-Salazar, B. E., & Mecías-Herrera, N. L. (2023). Resistencia Antibiótica de Microorganismos del grupo ESKAPE y la Relevancia de las Prácticas de Uso Prudente de Antibióticos (PROA). *Código Científico Revista de Investigación*, 4(E2), 240–254. <https://doi.org/https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v4/nE2/204>
- Rodríguez, A. (2021). *Interacciones entre organismos mediadas por compuestos orgánicos volátiles producidos por bacterias y hongos*. <https://hdl.handle.net/1992/53730>
- Romano, S., Jackson, S. A., Patry, S., & Dobson, A. D. W. (2018). Extending the “One Strain Many Compounds” (OSMAC) Principle to Marine Microorganisms. In *Marine Drugs* (Vol. 16, Issue 7, p. 244). <https://doi.org/10.3390/md16070244>
- Salvador, G. A. (2021). *Staphylococcus aureus Resistente a Meticilina: Estudio de Porcentaje de Aislamientos y Perfil de Resistencia entre los años 2016-2019 en el Hospital San Vicente de Paúl*.
- Sánchez de Rivas, C. (2006). ¿Antibióticos, ayer, hoy y mañana? *Química Viva*, 5(2), 63–77. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86350203>
- Saraswathy, A., & Hallberg, R. (2005). Mycelial pellet formation by *Penicillium ochrochloron* species due to exposure to pyrene. *Microbiological Research*, 160(4), 375–383. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.03.001>
- Schneider, W. D. H., dos Reis, L., Camassola, M., & Dillon, A. J. P. (2014). Morphogenesis and production of enzymes by *Penicillium echinulatum* in response to different carbon sources. *BioMed Research International*, 2014, 254863. <https://doi.org/10.1155/2014/254863>
- Sharma, G., & Pandey, R. R. (2010). Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 1(8), 157–164.
- Sharma, M., Sharma, M., Shri, R., & Nagar, N. (2011). *Influence of culture media on mycelial growth and sporulation of some soil dermatophytes compared to their clinical isolates*. 3.
- Sheth, D., Patel, P., & Patil, R. (2018). Influence of media, temperatures and pH on the growth and sporulation of *Aspergillus niger*. *International Journal of Chemical*

- Studies*, 6, 1791–1794.  
<https://www.chemijournal.com/archives/2018/vol6issue2/PartZ/6-1-437-283.pdf>
- Song, F., Lin, R., Yang, N., Jia, J., Wei, S., Han, J., Li, J., Bi, H., & Xu, X. (2021). Antibacterial Secondary Metabolites from Marine-Derived Fungus *Aspergillus* sp. IMCASMF180035. In *Antibiotics* (Vol. 10, Issue 4, p. 377).  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10040377>
- Suleiman, W. B. (2023). A multi-aspect analysis of two analogous aspergillus spp. belonging to section Flavi: *aspergillus flavus* and *aspergillus oryzae*. *BMC Microbiology*, 23(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02813-0>
- Suqui, A., Célleri, R., Crespo, P., & Carrillo-Rojas, G. (2021). Interacciones entre índice de área foliar, densidad del dosel y precipitación efectiva de un bosque de *Polylepis reticulata* ubicado en un ecosistema de páramo. *Granja*, 34(2), 63–79.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.17163/lgr.n34.2021.04>
- Tacca, B., Yataco, R. J. Y., Farfán, A. A., Calderón, L. M., & Cantoral, J. C. A. (2022). Antibiosis y micoparasitismo de hongos endófitos sobre el agente causal del moho gris del arándano (*Botrytis cinerea*). *Bioagro*, 34(3), 209–222.
- TM. (2019). *Malt Extract Powder*. <https://www.tmmedia.in/wp-content/uploads/TD/TD-1214.pdf>
- Torchi, A. (2025). Morphogenesis modulation of *Rhizopus oryzae* by peptone enhances lipase production during submerged fermentation. *Ecological Genetics and Genomics*, 37, 100406. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.egg.2025.100406>
- Trinci, A. J. P., & Collinge, A. J. (1974). Spore formation in nitrogen and carbon starved cultures of *Geotrichum candidum* and *Mucor racemosus*. *Transactions of the British Mycological Society*, 62(2), 351-IN29. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(74\)80043-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0007-1536(74)80043-4)
- Ttacca, B., Alca-Zavala, J., Rosas-Martínez, J., Robles-Perez, E., Zamudio-Eustaquio, P., & García-Díaz, L. (2024). Hongos endófitos asociados a *Vitis vinifera* con capacidad de antibiosis hacia *Botrytis cinerea*. *Agron. Mesoam.*, 56193.  
<https://doi.org/10.15517/am.2024.56193>
- Valente, S., Cometto, A., Piombo, E., Meloni, G. R., Ballester, A.-R., González-Candelas, L., & Spadaro, D. (2020). Elaborated regulation of griseofulvin biosynthesis in *Penicillium griseofulvum* and its role on conidiation and virulence. *International Journal of Food Microbiology*, 328, 108687.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108687>
- Veiter, L., Rajamanickam, V., & Herwig, C. (2018). The filamentous fungal pellet-relationship between morphology and productivity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(7), 2997–3006. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8818-7>
- Vergara, N. A. (2024). *Diversidad y composición de la comunidad de hongos endófitos foliares de Espeletia argentea en un escenario de cambio climático*. Universidad de los Andes. <https://hdl.handle.net/1992/75008>

- Vilema, A. (2021). *CARACTERIZACIÓN DE LOS HONGOS ASOCIADOS A LA RIZÓSFERA DE *Vaccinium floribundum* Kunth EN EL PÁRAMO DE GANQUIS, PROVINCIA DE CHIMBORAZO* [ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO].  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17675/1/236T0651.pdf>
- Vite-Garín, T., Estrada-Cruz, N. A., Hernández-Castro, R., Fuentes-Venado, C. E., Zarate-Segura, P. B., Frías-De-León, M. G., Martínez-Castillo, M., Martínez-Herrera, E., & Pinto-Almazán, R. (2024). Remarkable Phenotypic Virulence Factors of *Microsporum canis* and Their Associated Genes: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5). <https://doi.org/10.3390/ijms25052533>
- Vrabl, P., Schinagl, C. W., Artmann, D. J., Heiss, B., & Burgstaller, W. (2019). Fungal Growth in Batch Culture – What We Could Benefit If We Start Looking Closer. *Frontiers in Microbiology*, Volume 10-2019.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02391>
- Wadhwa, K., Kapoor, N., Kaur, H., Abu-Seer, E. A., Tariq, M., Siddiqui, S., Yadav, V. K., Niazi, P., Kumar, P., & Alghamdi, S. (2024). A Comprehensive Review of the Diversity of Fungal Secondary Metabolites and Their Emerging Applications in Healthcare and Environment. *Mycobiology*, 52(6), 335–387.  
<https://doi.org/10.1080/12298093.2024.2416736>
- Wang, X.-C., Chen, K., Zeng, Z.-Q., & Zhuang, W.-Y. (2017). Phylogeny and morphological analyses of *Penicillium* section *Sclerotiora* (Fungi) lead to the discovery of five new species. *Scientific Reports*, 7(1), 8233.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-08697-1>
- Weitzman, I., & Summerbell, R. C. (1995). The dermatophytes. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(2), 240–259. <https://doi.org/10.1128/cmr.8.2.240>
- White, S., McIntyre, M., Berry, D. R., & McNeil, B. (2002). The autolysis of industrial filamentous fungi. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22(1), 1–14.  
<https://doi.org/10.1080/07388550290789432>
- Wösten, H. A. B. (2001). Hydrophobins: Multipurpose Proteins. *Annual Review of Microbiology*, 55(Volume 55, 2001), 625–646.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.625>
- Zafra, G., & Rangel, D. (2022). Diversidad microbiana asociada a *Espeletia* spp. en ecosistemas de alta montaña. *Biotechnología Sect. Agropecu. Agroindustrial*, 20(2), 129–141. <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n2.2022.1640>
- Zhang, Z. Y., Jin, B., & Kelly, J. M. (2007). Production of lactic acid from renewable materials by *Rhizopus* fungi. *Biochemical Engineering Journal*, 35(3), 251–263.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.01.028>
- Zhou, X., Ahmed, S. A., Tang, C., Grisolia, M. E., Warth, J. F. G., Webster, K., Peano, A., Uhrlass, S., Cafarchia, C., Hayette, M. P., Sacheli, R., Matos, T., Kang, Y., de Hoog, G. S., & Feng, P. (2023). Human adaptation and diversification in the *Microsporum canis* complex. *IMA Fungus*, 14(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s43008-023-00120-x>

Znidarsic, P. (2001). The morphology of filamentous fungi in submerged cultivations as a bioprocess parameter. *Food Technol. Biotechnol.*, 39, 237–252.  
<https://cir.nii.ac.jp/crid/1571980076176264448>

## 7. Anexos

### 7.1. Anexo 1. Prueba de Tukey realizada en el software estadístico InfoStat

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,64013**

Error: 0,0442 gl: 30

CEPA	MEDIO	Medias	n	E.E.				
MP3	PDB	1,81	3	0,12	A			
PP3	PDB	1,28	3	0,12	A	B		
MP1	PDB	1,26	3	0,12	A	B		
MP3	EM	1,19	3	0,12	A	B		
PP2	PDB	1,15	3	0,12		B		
MP4	PDB	1,08	3	0,12		B	C	
PP3	EM	1,04	3	0,12		B	C	
PQ1	PDB	1,00	3	0,12		B	C	
MP4	EM	0,97	3	0,12		B	C	
PP4	EM	0,97	3	0,12		B	C	
PP4	PDB	0,90	3	0,12		B	C	D
MQ1	PDB	0,89	3	0,12		B	C	D
PP2	EM	0,81	3	0,12		B	C	D
PQ1	EM	0,65	3	0,12		B	C	D
MP1	EM	0,49	3	0,12			C	D
MQ1	EM	0,27	3	0,12				D

*Medias con una letra común no son signific.*