



B1

ISSN: 2595-1661

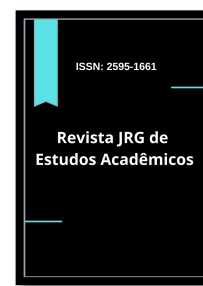
ARTIGO

Listas de conteúdos disponíveis em [Portal de Periódicos CAPES](#)

Revista JRG de Estudos Acadêmicos

Página da revista:

<https://revistajrg.com/index.php/jrg>



Hongos hidrocarbonoclastas en suelos amazónicos: caracterización polifásica y potencial enzimático para la biorremediación

DOI: 10.55892/jrg.v9i20.3130

ARK: 57118/JRG.v9i20.3130

Recebido: 20/03/2026 | Aceito: 02/04/2026 | Publicado on-line: 05/04/2026

Ruth Dayra Dahua Gualinga

<https://orcid.org/0009-0009-3472-6540>

Universidad Estatal Amazónica, Ecuador

E-mail: ruthdahua94@gmail.com

Mariana Magdalena Conforme Garcia

<https://orcid.org/0009-0002-4844-3604>

Universidad Estatal Amazónica, Ecuador

Maricarmen Dávila Ulloa

<https://orcid.org/0009-0005-2140-229X>

Universidad Estatal Amazónica, Ecuador

Romina Alejandra Guardia Macías

<https://orcid.org/0009-0005-7254-8256>

Academia Latinoamericana de Estudios Veterinarios (ALEV), Chile

E-mail: romina.guardia@vetclasschile.com



Resumen

La contaminación por petróleo en la Amazonía ecuatoriana representa un desafío ambiental que requiere identificar microorganismos autóctonos con capacidades metabólicas específicas. El propósito de este estudio es caracterizar morfológica y bioquímicamente diversos aislamientos fúngicos obtenidos de suelos impactados para evaluar su potencial en estrategias de remediación biológica. La metodología consistió en el aislamiento de especímenes mediante taxonomía polifásica y la aplicación de pruebas bioquímicas de catalasa y agar hierro triple azúcar como indicadores de aptitud metabólica. Los resultados revelaron la presencia de diez morfotipos distintos, destacando los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. Específicamente, *Aspergillus tamarii* mostró una prevalencia absoluta en todas las réplicas, seguida por *Aspergillus niger* y *Penicillium cataractarum*. Estos hallazgos se interpretan como una respuesta adaptativa a la presión selectiva del entorno, donde la vigorosa actividad de la enzima catalasa sugiere una alta resiliencia frente al estrés oxidativo generado por los hidrocarburos. Asimismo, la capacidad de producir ácido sulfhídrico observada indica vías especializadas para la transformación de compuestos complejos. Se concluye que el consorcio identificado posee una maquinaria enzimática complementaria, lo que fundamenta su viabilidad como una herramienta biotecnológica prometedora para la recuperación de ecosistemas amazónicos perturbados.

Palabras clave: Micorremediación, Amazonía, *Aspergillus*, Bioquímica fúngica, Hidrocarburos.



Abstract

*Oil contamination in the Ecuadorian Amazon presents an environmental challenge that requires the identification of indigenous microorganisms with specific metabolic capabilities. The purpose of this study is to morphologically and biochemically characterize various fungal isolates obtained from contaminated soils to evaluate their potential for use in bioremediation strategies. The methodology consisted of isolating specimens using polyphasic taxonomy and applying biochemical tests for catalase and triple-sugar iron agar as indicators of metabolic capability. The results revealed the presence of ten distinct morphotypes, with the genera *Aspergillus* and *Penicillium* being the most prominent. Specifically, *Aspergillus tamarii* showed absolute prevalence in all replicates, followed by *Aspergillus niger* and *Penicillium cataractarum*. These findings are interpreted as an adaptive response to selective environmental pressure, where the vigorous activity of the catalase enzyme suggests high resilience to oxidative stress generated by hydrocarbons. Likewise, the observed ability to produce hydrogen sulfide indicates specialized pathways for the transformation of complex compounds. It is concluded that the identified consortium possesses a complementary enzymatic machinery, which supports its viability as a promising biotechnological tool for the restoration of disturbed Amazonian ecosystems.*

Keywords: *Mycoremediation, Amazon, Aspergillus, Fungal biochemistry, Hydrocarbons.*

1. Introducción:

Los hidrocarburos de petróleo (PHC), son compuestos orgánicos formados por carbono e hidrógeno, están presentes en el petróleo crudo y sus derivados, como lubricantes, aceites y combustibles. Su uso extensivo en industrias, talleres mecánicos y lubricadoras, sumado a derrames accidentales y malas prácticas durante su extracción, transporte o almacenamiento, representa una fuente significativa de contaminación del suelo. Una vez liberados al ambiente, estos compuestos hidrofóbicos, químicamente estables y de baja biodegradabilidad interactúan con la matriz edáfica, desplazando el oxígeno y el agua, lo cual genera condiciones anaeróbicas que afectan negativamente la aireación, la infiltración y la circulación de nutrientes (Daâssi & Almaghribi, 2022).

La presencia de hidrocarburos altera severamente las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo, comprometiendo su fertilidad y funcionalidad ecológica (Zamora, Ramos, & Arias, 2012). En particular, la acumulación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) puede provocar efectos tóxicos agudos y crónicos en la biota del suelo, con potencial mutagénico, teratogénico y carcinogénico. Además, su persistencia ambiental favorece procesos de bioacumulación y biomagnificación en las cadenas tróficas. Estas alteraciones desequilibran la relación carbono/nitrógeno, inhiben la germinación de semillas, afectan el microbiota nativo y reducen significativamente la biomasa y actividad microbiana. Como resultado, se comprometen funciones esenciales del suelo, como la mineralización de nutrientes, la descomposición de la materia orgánica y la supresión de patógenos (Bassazin, Tadele, & Melkamu, 2024).

En este contexto, la biorremediación surge como una alternativa prometedora, basada en la capacidad de los microorganismos para transformar o degradar contaminantes en ecosistemas terrestres y acuáticos. Sin embargo, su efectividad depende de la biodiversidad microbiana presente y de las capacidades adaptativas de las especies involucradas (Valdez Saldaña, Salcedo Martínez, & Rocha Estrada, 2023).

Entre los organismos con mayor potencial para la biorremediación de suelos contaminados por PHC destacan los hongos hidrocarbonoclastas, un grupo de microorganismos filamentosos capaces de utilizar los hidrocarburos como fuente de



carbono. Géneros como *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* se han documentado por su alta tolerancia a ambientes contaminados y su capacidad de metabolizar compuestos complejos, incluidos los PAHs (Mahmud, Alhaji, & Lambu, 2022).

Esta capacidad se atribuye a la producción de enzimas extracelulares y a sistemas de respuestas al estrés oxidativo. Durante la rotura de las estructuras químicas de los hidrocarburos, se generan intermediarios metabólicos y radicales libres que pueden comprometer la viabilidad celular; por lo tanto, la presencia de sistemas enzimáticos antioxidantes, como la catalasa, es un indicador indirecto de la robustez metabólica y la capacidad de adaptación del hongo al microambiente contaminado (Medaura, Guivernau, Moreno, Prenafeta, & Viñas, 2021). En comparación con las bacterias, los hongos presentan mayor tolerancia a condiciones adversas, como baja disponibilidad de nutrientes, pH extremos o presencia de metales pesados. Asimismo, según (Barnes, Khodse, Lotlikar, Meena, & Damare, 2017); (Dinakarkumar, y otros, 2024) los hongos presentan ventajas notables frente a las bacterias: pueden crecer en condiciones adversas, como suelos con escasez de nutrientes, pH extremos o presencia de metales pesados. Su estructura micelial facilita la penetración profunda en el sustrato, alcanzando contaminantes de difícil acceso, y muchos de ellos producen biosurfactantes que incrementan la biodisponibilidad de los hidrocarburos.

El aislamiento y caracterización de hongos hidrocarbonoclastas en suelos contaminados tiene relevancia tanto ecológica como biotecnológica, particularmente en regiones tropicales o amazónicas donde la diversidad microbiana nativa es aún escasamente documentada. La falta de estudios limita el conocimiento sobre las especies fúngicas adaptadas a ambientes contaminados y obstaculiza el diseño de estrategias de remediación localizadas (Sari, Novianty, Awaluddin, & Saryono, 2019). Explorar la biodiversidad microbiana local es una estrategia clave para entender los mecanismos ecológicos que subyacen a la resiliencia de los suelos contaminados y para fomentar una gestión ambiental basada en recursos biológicos propios.

Además de enriquecer el conocimiento científico regional, la identificación de hongos nativos con capacidades degradadoras constituye una vía sostenible y de bajo costo para la remediación de sitios contaminados, especialmente en contextos con limitaciones técnicas o económicas. Su estudio fortalece las bases para el desarrollo de tecnologías de micorremediación ajustadas a las condiciones edáficas y climáticas locales, disminuye la dependencia de soluciones externas y abre oportunidades para integrar estos enfoques en procesos de restauración ecológica y en la construcción de una bioeconomía regional resiliente y autosuficiente (Marín, Navarrete, & Narvaez-Trujillo, 2018).

En este contexto la presente investigación tiene como objetivo aislar hongos hidrocarbonoclastas, identificar los morfotipos dominantes mediante un tamizaje de frecuencia de aparición y caracterizar su potencial metabólico a través de análisis morfológicos, pruebas bioquímicas y secuenciación genómica. Se busca generar información estratégica para el desarrollo de tecnologías de micorremediación adaptadas a las condiciones locales.



2. Metodología

Área de estudio y muestreo

El estudio se realizó en el cantón Pastaza, ciudad de Puyo (Ecuador) específicamente en establecimientos de mantenimiento automotriz (lubricadoras), del barrio Obrero. Esta zona se caracteriza por un clima tropical húmedo, con una temperatura promedio de 20- 22 °C y alta pluviosidad, condiciones que favorecen la lixiviación de contaminantes y el desarrollo de micobiota nativa (Alarcon, Castro, Parente, & Leon, 2020).

Se seleccionaron aleatoriamente tres estaciones de muestreo (lubricadoras con historial de vertidos oleosos). En cada estación, se establecieron tres puntos de recolección siguiendo un diseño de muestreo aleatorio simple dentro del área de mayor impacto visual (manchas de hidrocarburos). Las muestras de suelo (aprox. 500 g) se tomaron a una profundidad de 15 cm tras retirar la capa superficial, utilizando herramientas de acero inoxidable previamente esterilizadas para evitar contaminación cruzadas (Andrade, Mafla, Riofrío, & Hernández, 2024).

Las submuestras de cada establecimiento se homogeneizaron para obtener muestras compuestas representativas. El material recolectado se almacenó en bolsas de polietileno estériles de primer uso, se sellaron herméticamente y se transportaron en cajas térmicas para preservar la integridad de la comunidad fúngica hasta su procedimiento en el laboratorio dentro de las 12 horas posteriores.

Siembra y aislamiento de hongos hidrocarbonoclastas

Para la recuperación de los propágulos fúngicos, se empleó la técnica de enriquecimiento en suspensión adaptada de (Asemoloye, et al., 2020). Se homogeneizaron 10 g de cada muestra compuesta en 90 ml estéril, sometidos a agitación mecánica constante (Agitador IKA, Alemania) durante 30 minutos para liberar estructuras fúngicas de la matriz edáfica.

El aislamiento primario se realizó en Agar Rosa de Bengala suplementado con Chloramphenicol (medio selectivo para hongos), esterilizado a 121 °C y 15 psi durante 20 minutos. Para asegurar la inhibición bacteriana se verificó la concentración del antibiótico post autoclavado. Se inocularon alícuotas de 1 mL de la suspensión madre en placas Petri por la técnica de vertido en placa, realizando el procedimiento por triplicado para cada muestra de suelo. Las unidades experimentales se incubaron a 27 °C en una incubadora (Mettler, Alemania).

Tras la incubación inicial, se realizó un mapeo de morfotipos basado en la arquitectura de la colonia y pigmentación. Siguiendo a (Gómez A., Sarmiento, & Delgado, 2014), los aislamientos presuntivos se purificaron mediante repiques sucesivos (subcultivos) en medio fresco hasta obtener cultivos axénicos (puros). La pureza de las cepas se confirmó mediante observación macroscópica de la uniformidad de la colonia y microscopía de contraste (López-Jácome, et al., 2014).

Caracterización morfológica macroscópica y microscópica

La caracterización macroscópica de los aislamientos fúngicos se realizó mediante la observación estandarizada de las colonias durante 14 días en medio sólido. Se registraron variables cualitativas y cuantitativas para cada cepa incluyendo: tasa de crecimiento radial, morfología de borde, elevación, textura y pigmentación (tanto superficial como en el reverso de la placa (Gómez-Garzón, León-Enciso, & Rodríguez-Rodríguez, 2018).



Para la identificación microscópica, se empleó la técnica de montaje húmedo con azul de lactofenol. Se tomó una impronta de cada colonia joven y se observó en un microscopio óptico Motic 0032 utilizando objetivos de 40x y 100x (con aceite de inmersión). El análisis se centró en la identificación de estructuras diagnosticas clave, tales como la septación de hifas, la morfología de conidióforos, vesículas, fiálides y la disposición de los conidios (Alsohaili & Bani-Hasan, 2018). Para la visualización de estructuras reproductivas se utilizó un microscopio óptico marca Motic modelo 0032 en un objetivo de 40x y 100x (Salvamani & Mohammad, 2014).

Evaluación del perfil metabólico y adaptativo (Pruebas bioquímicas)

Actividad de catalasa

La presencia de la enzima catalasa se evaluó como indicador de la capacidad de los aislados para neutralizar el estrés oxidativo derivado del metabolismo de hidrocarburos. Sobre un portaobjetos estéril se colocó una fracción de micelio fresco (2-3mm) y se adicionó una gota de peróxido de hidrogeno (H_2O_2 al 3% v/v). La reacción se consideró positiva ante la efervescencia inmediata (liberación de O_2). La intensidad de respuestas se categorizo de forma semicuantitativa en: débil (+), moderada (++) , y fuerte (+++), basándose en la densidad de la liberación de burbujas en los primeros 10 segundos de exposición (Beltrán-García, Ogura-Fujii, Manzo-Sánchez, & Arias-Castro, 2006).

Ensayo en Agar Hierro Triple Azúcar (TSI)

Se empleó el medio TSI (Triple Sugar Iron) para determinar la versatilidad de los aislados en la fermentación de carbohidratos (glucosa 0,1 %, lactosa 1 % y sacarosa 1 %) y la producción de subproductos metabólicos (H_2S y gas). El medio con rojo de fenol como indicador de pH a ($7,3 \pm 0,2$), se dispuso en tubos con geometría de bisel y fondo (slant/butt) (MacFadden & Baltimore, 1980).

La inoculación se realizó mediante punción profunda en el centro del medio y siembra por estriado en la superficie de bisel utilizando una aguja de disección estéril. Los tubos se incubaron a 27 °C durante 72 h considerando el metabolismo más lento de hongos filamentosos en comparación con bacterias (Hajna, 2018).

La interpretación se basó en el viraje de color del indicador: acidificación total (amarillo/amarillo), fermentación selectiva de glucosa (rojo/amarillo) o alcalinización por metabolismo de peptonas (rojo/rojo). Asimismo, se registró la presencia de fracturas en el medio (producción de gas) y el ennegrecimiento por precipitación de sulfuros (Tille, 2024).

Identificación molecular de los aislados

La identificación taxonómica de los aislados con mayor potencial metabólico y frecuencia de aparición se realizó mediante el análisis de secuencias de ADN en el laboratorio IDgen (Ecuador). El ADN genómico se extrajo de cultivos puros en fase logarítmica de crecimiento. La identificación se basó en la amplificación y secuenciación de marcadores moleculares específicos según el género presuntivo: Para el aislado M1.4 se amplificó la región de los espaciadores transcritos internos (ITS) utilizando los cebadores universales ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Schoch, y otros, 2012).

Para el aislado M3, se empleó como marcador filogenético el factor de elongación de la traducción 1-alfa (TEF), debido a su mayor resolución para la distinción de especies (Nilsson, y otros, 2012). Los productos de PCR fueron secuenciados por el método de Sanger y las secuencias obtenidas se compararon con las bases de datos GenBank y UNITE



mediante el algoritmo BLASTn. Se aplicó un umbral de identidad $\geq 98\%$ para la asignación de especie.

Análisis de resultados

Debido a la naturaleza selectiva del estudio ($n = 3$) aislamientos finalistas), se aplicó un enfoque de estadística descriptiva robusta. Los rasgos bioquímicos cualitativos (actividad catalasa, fermentación de carbohidratos, producción de gas y H_2S se transformaron en una matriz binaria (1 = presencia/positivo; 0 = ausencia/negativo).

Para cada rasgo, se calcularon las proporciones y sus respectivos intervalos de confianza del 95% empleando el método de Wilson, dada su precisión en tamaños muestrales reducidos. La divergencia metabólica entre los aislados se determinó mediante el cálculo de la distancia de Jaccard, y las relaciones de similitud se visualizaron a través de un dendrograma UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). Todos los análisis computacionales y la generación de figuras se realizaron en el entorno **Python 3.x** utilizando las librerías *pandas*, *NumPy*, *statsmodels* y *SciPy*, asegurando la integridad y reproducibilidad del flujo de trabajo de datos.

3. Resultados

3.1 Diversidad de morfotipos y selección de aislamientos representativos

Tabla 1.

Diversidad de morfotipos fúngicos y criterios de selección de aislamientos representativos

Morfotipo	Coloración (anverso/reverso)	Textura	Borde	Diámetro (cm)	Representativo (✓)
M1	Marrón claro a negro / negro con áreas marrones	Algodonosa- granulosa	Irregular, rizoide	6,5	X
M2	Blanco a gris oscuro / negro con pigmento amarillo	Semi- granulosa, convexa	Lobulado Circular irregular, lobulado	4,3	X
M3	Blanco a marrón oscuro / negro	Algodonosa- polverulenta	Lobulado- ondulado	4,8	X
M4	Blanco a marrón oscuro / marrón oscuro y claro	Algodonosa- granulosa, convexa	Lobulado- ondulado	7,4	X
M5	Blanco a verde grisáceo / negro con pigmentos amarillos	Vellosa, convexa	Lobulado, rizoide	5,6	✓
M6	Gris oscuro con halo claro / grisáceo	Aterciopelada- polverulenta	Irregular, difusa	7,6	X
M7	Blanco a verde oscuro / centro negro con pigmento anaranjado	Algodonosa, convexa	Irregular, difuso	6,2	✓
M8	Blanco con centro gris a negro / blanco	Algodonosa con zonas granulosas	Irregular, rizoide	2,8	X
M9	Blanco con conidios verde claro / blanco con pigmento amarillo	Lanosa- polverulenta, convexa	Irregular, rizoide	6,3	✓
M10	Blanco con centro grisáceo / blanco y negro plegado	Aterciopelada, plana	Regular, definido	4,2	X

Nota: Se identificaron un total de 10 morfotipos fúngicos diferenciados por caracteres macroscópicos. Sin embargo, únicamente tres aislamientos (**M5**, **M7** y **M9**) fueron seleccionados como representativos debido a su recurrencia (presencia en todas las muestras y réplicas) y su vigor metabólico. Estos morfotipos



presentaron una actividad enzimática prominente (Catalasa positiva y reactividad en la prueba TSI), lo cual, sumado a su dominancia en el cultivo, justificó su posterior identificación molecular mediante secuenciación genética.

3.2 Caracterización morfológica

Tabla 2.

Caracterización morfológica integral (macro y microscópica) de los aislamientos representativos.

Nivel	Variable	Aislamiento M5	Aislamiento M7	Aislamiento M9
MACRO	Color (Micelio/Reverso)	Verde-gris / Negro-am.	Blanco-negro / Negro Pulverulenta /	Marrón-negro Granulosa /
	Textura y Borde Crecimiento (7d)	Velosa / Rizoide 5.6 cm	Lobulado 4.8 cm	Rizoide 6.5 cm
MICRO	Hifas	Septadas, hialinas	Septadas, ramificadas	ramificadas
	Conidióforos	Erectos, hialinos	Erectos, pardo claros	Erectos, lisos
	Vesícula	Globosa	Globosa a subglobosa	Subglobosa
	Fiálides	Uniseriadas	Biseriadas	Cortas Subesféricos, granulosos
	Conidios	Esféricos, pared lisa	Esféricos, rugosos	

Nota: Las variables macroscópicas se evaluaron al séptimo día de incubación a 28°C. Las estructuras microscópicas fueron observadas mediante la técnica de impronta con cinta adhesiva y tinción con azul de lactofenol. El crecimiento radial (7d) se reporta como el valor promedio de las réplicas biológicas. La terminología empleada para las estructuras reproductivas se basa en claves taxonómicas estandarizadas para la identificación de hongos filamentosos.

3.3 Identificación taxonómica de los aislamientos representativos

Tabla 3

Resultados de la asignación taxonómica y registro genético.

Código	Identidad Taxonómica	% Identidad	Número de Accesoión (GenBank)	Referencia / Lab.
M5	<i>Aspergillus cf. niger</i>	---	N/A*	Morfología comparada
M7	<i>Penicillium cataractarum</i>	100%	XM_0567029	IDGEN
M9	<i>Aspergillus tamarii</i>	100%	MN095190.1	IDGEN

Nota: N/A (No Aplicable): El aislamiento M5 fue identificado mediante criterios morfométricos y claves taxonómicas de referencia. Al no contar con datos de secuenciación de nucleótidos para este aislamiento específico, no se dispone de un número de accesoión en bases de datos genómicas (GenBank). Sin embargo, su relevancia funcional en las pruebas bioquímicas justificó su inclusión en el estudio.

3.4 Caracterización bioquímica y potencial metabólico

Para evaluar la capacidad enzimática y el potencial adaptativo de los hongos aislados frente a condiciones de estrés oxidativo, se realizaron pruebas bioquímicas cualitativas. La Tabla 4 detalla los resultados de la prueba de catalasa, evidenciando una alta actividad enzimática en los tres aislamientos representativos.



Muestra	ID	Prueba	Observación	Resultado
M5	Hongo 1	Catalasa (H ₂ O ₂)	Formación inmediata de burbujas de oxígeno	+++
M7	Hongo 2	Catalasa (H ₂ O ₂)	Formación inmediata de burbujas de oxígeno	+++
M9	Hongo 3	Catalasa (H ₂ O ₂)	Formación inmediata de burbujas de oxígeno	+++

Nota: La simbología (+++) indica una reacción positiva fuerte, caracterizada por una efervescencia vigorosa e inmediata tras la adición de peróxido de hidrógeno al 3%. Esta actividad enzimática sugiere una alta capacidad de los aislamientos para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), una característica común en microorganismos con potencial de biorremediación en suelos impactados.

Tabla 5.

Perfil de fermentación de azúcares y producción de gases en medio TSI.

Identidad Taxonómica	Glucosa	Lactosa	Sacarosa	Gas S	H ₂ S	Observación
<i>Aspergillus cf. niger</i>	+	-	-	-	-	Pico rojo (K), fondo amarillo (A)
<i>Penicillium cataractarum</i>	+	+	+	-	+	Todo amarillo (A/A) con zonas negras
<i>Aspergillus tamaritii</i>	+	+	+	-	-	Todo el medio amarillo (A/A)

Nota: K (Alcalino/Rojo): Indica el uso de peptonas en lugar de carbohidratos. **A (Ácido/Amarillo):** Indica la fermentación de los azúcares presentes. **H₂S (+):** Indica la producción de ácido sulfhídrico (precipitado negro). Los resultados positivos en los tres azúcares para *P. cataractarum* y *A. tamaritii* sugieren una alta capacidad enzimática para hidrolizar carbohidratos complejos, una ventaja adaptativa en entornos con materia orgánica diversa.

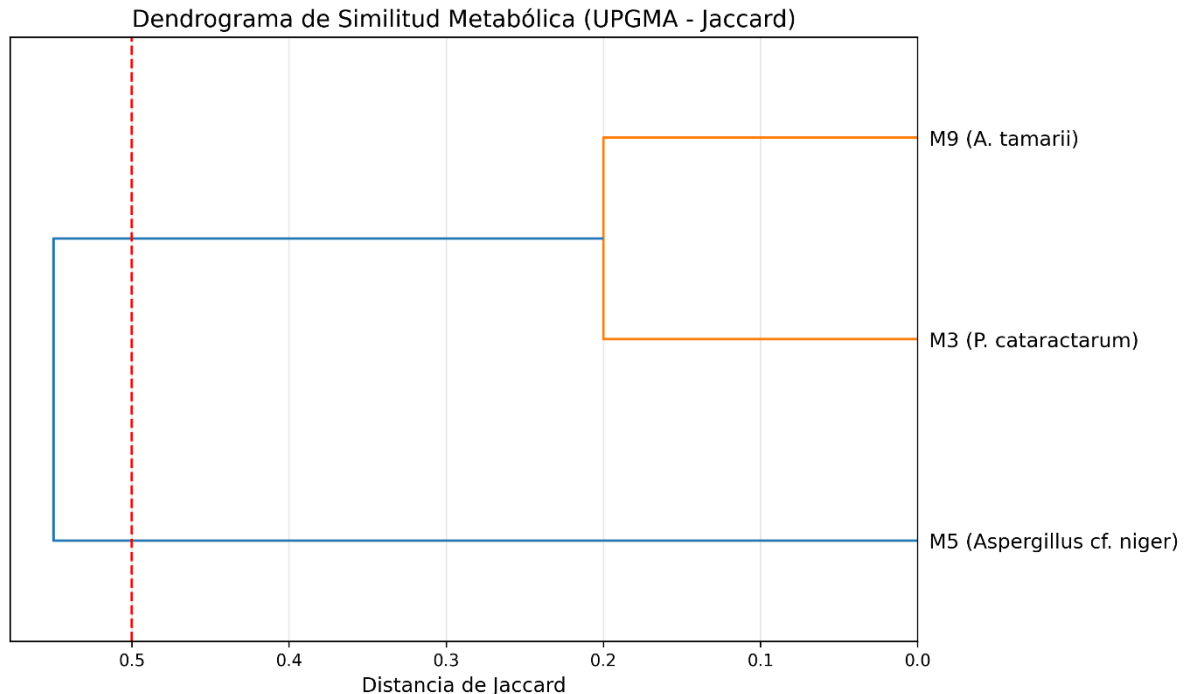
3.5. Análisis de similitud y agrupamiento (Dendrograma de Jaccard)

Con el objetivo de determinar el grado de similitud entre los aislamientos representativos basándose en sus perfiles morfo-bioquímicos, se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico. Utilizando el coeficiente de similitud de Jaccard y el método UPGMA, se generó un dendrograma que visualiza la distancia biológica entre las especies identificadas (Figura 1).



Figura 1.

Dendrograma de similitud fenotípica y metabólica (UPGMA - Jaccard). El eje horizontal indica la distancia de Jaccard; distancias menores a 0.2 reflejan una alta convergencia en perfiles de fermentación y morfología.



Nota: Se observa el agrupamiento principal entre *P. cataractarum* y *A. tamarii*, mientras que *Aspergillus cf. niger* (M1-3) presenta una divergencia marcada (≈ 0.55) debido a su especialización metabólica en el medio TSI.

3.6. Estimación de la prevalencia mediante el intervalo de confianza de Wilson

Para determinar la representatividad de los aislamientos en el área de estudio, se calculó la proporción de aparición en las réplicas efectuadas (N=9). El uso del intervalo de confianza de Wilson permitió establecer límites de probabilidad robustos, considerando el tamaño de la muestra. Los resultados (Tabla 6) indican que *Aspergillus tamarii* presentó una prevalencia absoluta (100%), seguido por *Aspergillus cf. niger* (77.7%) y *Penicillium cataractarum* (66.6%).

Tabla 6. Proporción de ocurrencia e intervalos de confianza de Wilson (95%) para los aislamientos fúngicos.

Aislamiento	Frecuencia (n/9)	Proporción (p)	L. Inferior (95%)	L. Superior (95%)
<i>Aspergillus cf. niger</i>	7/9	0.77	0.45	0.93
<i>Penicillium cataractarum</i>	6/9	0.66	0.35	0.87
<i>Aspergillus tamarii</i>	9/9	1.00	0.70	1.00

El intervalo de Wilson (IC_{95%}) confirma la alta representatividad de los aislamientos en el área de estudio. La prevalencia absoluta de *A. tamarii* (P=1.00) y la robustez estadística de los límites inferiores en *A. cf. niger* y *P. cataractarum* sugieren una



adaptación evolutiva y funcional a la presión selectiva ejercida por los hidrocarburos en el suelo, consolidándolos como candidatos clave para procesos de bioaumentación.

4 Discusión

La valoración crítica de los resultados obtenidos demuestra una diversidad notable de 10 morfotipos fúngicos, cuya variabilidad fenotípica en aspectos como coloración, textura y diámetro micelial actúa como el primer indicador de especialización funcional en suelos impactados por hidrocarburos (Ramdas & Sephra, 2021). Esta riqueza de especies es comparable a lo reportado por (Olumuyiwa, Ajetunmobi, & Adeniji, 2025), sugiriendo que la diferenciación morfológica precede y sustenta la identidad funcional.

En el contexto de la Amazonía ecuatoriana, donde la contaminación por crudo ejerce una presión selectiva constante debido a las actividades extractivas en provincias como Sucumbíos y Orellana, la predominancia de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* se debe a su plasticidad metabólica (Miranda & Javier, 2018). Estos hallazgos guardan estrecha relación con estudios realizados en la región amazónica (Reyes-Sosa & Arena, 2017), donde se identifica a estos Ascomycetes como los principales agentes de resiliencia biótica frente a derrames de petróleo, gracias a su capacidad para secretar enzimas extracelulares que fracturan cadenas complejas de hidrocarburos saturados y aromáticos (Das & Chandran, 2010).

Un aspecto metodológico distintivo de este estudio es el empleo de las pruebas de Catalasa y TSI (Triple Sugar Iron), herramientas tradicionalmente bacteriológicas, aplicadas aquí como indicadores de aptitud micorremediadora (Sunita, 2019). Es imperativo justificar este enfoque: la prueba de catalasa en hongos no posee fines taxonómicos, sino que mide la resiliencia frente al estrés oxidativo. En suelos petrolizados, el proceso de degradación de hidrocarburos genera radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden lisar la célula fúngica (Nilanjana & Preethy, 2020). Por lo tanto, una reacción vigorosa (+++) como la observada en nuestros aislamientos, indica una maquinaria enzimática defensiva (catalasas y peroxidasas) altamente eficiente. Como señala (Ishfaq, Mahmood, Akbar, Nasir, & Saleem, 2019), esta actividad es una respuesta adaptativa directa; el hongo no solo sobrevive al contaminante, sino que utiliza estas enzimas para iniciar el ataque oxidativo sobre las moléculas del crudo, facilitando su posterior mineralización. Nuestros resultados refuerzan la teoría de que la actividad de la catalasa es un biomarcador de potencial de micorremediación coincidiendo con (Kumari, Singh, & Singh, 2015) sugieren que cepas con niveles (+++) de esta enzima presentan una tasa de degradación de HTP superior en un 30% a cepas con actividad basal.

De igual manera, el uso del medio TSI permite evaluar indirectamente la eficiencia energética para colonizar sustratos hostiles (Geoffrey, 2017). *Aspergillus tamaritii* emerge como un colonizador primario con una prevalencia absoluta del 100% (IC95%: 0.70–1.00). Su capacidad para fermentar glucosa, lactosa y sacarosa demuestra un metabolismo heterótrofo versátil que le permite obtener energía rápidamente de fuentes de carbono lábiles antes de iniciar la degradación de polímeros más recalcitrantes del petróleo (Gutierrez & Favela, 2018). Esta ventaja competitiva, sumada a rasgos morfológicos de conidios rugosos validados por (Moussango, et al., 2025), posiciona a *A. tamaritii* como el eje central del consorcio fúngico local. Esta dominancia guarda relación con lo expuesto por (Moreira, y otros, 2020), quien afirma que el género *Aspergillus* posee una fase lag más corta en presencia de hidrocarburos de cadena media, aventajando a otros competidores en las etapas iniciales de colonización.



Por otra parte, la versatilidad de *Penicillium cataractarum* aporta una dimensión biotecnológica crítica al ser el único aislamiento capaz de producir ácido sulfhídrico (H₂S). En el petróleo pesado del Oriente Ecuatoriano, caracterizado por un alto contenido de azufre orgánico, la producción de H₂S sugiere la existencia de vías de desulfurización y reducción (Carreño, 2018). Este proceso es vital, ya que el azufre suele actuar como un inhibidor microbiano; sin embargo, *P. cataractarum* parece utilizarlo en su beneficio, otorgándole un nicho ecológico específico (Navarro- Moreno, Rangel -Cordero, Nolasco-Hipólito, & Felipe-Collado, 2022). Según (Pernía, Demey, Inojosa, & Naranjo, 2012), ciertos hongos aislados de ambientes crónicos en la Amazonía han desarrollado la capacidad de utilizar compuestos orgánicos de azufre como aceptores finales de electrones, un rasgo evolutivo clave para la supervivencia en crudos pesados.

Finalmente, la integración de la taxonomía polifásica y el análisis de agrupamiento UPGMA-Jaccard validan la relevancia de *Aspergillus* cf. *niger* (M5). Aunque el dendrograma muestra una divergencia metabólica debido a su enfoque en la asimilación de glucosa, su presencia en el 77.7% de las muestras confirma que es un componente estructural del consorcio.

Bajo esta perspectiva el estudio demuestra una complementariedad funcional que el consorcio fúngico identificado posee una complementariedad funcional (Zeinab & Hamid, 2024), mientras *A. tamaris* domina por biomasa y resistencia oxidativa, *P. cataractarum* aporta capacidades bioquímicas especializadas, sugiriendo que el uso de consorcios mixtos es más prometedor para la micorremediación en la Amazonía que el uso de cepas aisladas (Abeer, Monira, Sameh, & Shereen, 2021).

5 Conclusiones

La diversidad fúngica en los suelos impactados del Oriente Ecuatoriano está representada por una comunidad resiliente de 10 morfotipos, donde la estabilidad taxonómica de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* confirma su rol como especialistas ambientales frente a la presión selectiva de los hidrocarburos.

El empleo de las pruebas de Catalasa y TSI como biomarcadores funcionales resultó ser una estrategia metodológica eficaz y de bajo costo para discriminar el potencial de micorremediación. La alta actividad oxidativa y la versatilidad en la fermentación de azúcares identifican a estas cepas como candidatos biotecnológicos robustos para procesos de bioaumentación.

Aspergillus tamaris se consolida como la especie pionera y dominante del sistema, con una prevalencia estadística absoluta (P=1.00) y una capacidad superior de mitigación del estrés oxidativo, lo que asegura su establecimiento exitoso en condiciones de contaminación crónica.

La capacidad única de *Penicillium cataractarum* para producir H₂S sugiere mecanismos de desulfurización especializados, esenciales para el tratamiento de crudos pesados con alto contenido de azufre orgánico, aportando una funcionalidad bioquímica que complementa la dominancia de los otros aislados.

La integración de la taxonomía polifásica con el análisis de intervalos de Wilson y agrupamiento UPGMA-Jaccard valida que el uso de consorcios fúngicos mixtos es la estrategia más prometedora para la remediación ambiental, permitiendo una degradación sinérgica y más completa de los contaminantes que el uso de cultivos mono-específicos.



6. Referencias

- Asemoloye , M., Solveig, T., Daccò, C., Wang, X., Shihan , X., Marchisio, M. A., . . . Pecoraro , L. (2020). Hydrocarbon Degradation and Enzyme Activities of *Aspergillus oryzae* and *Mucor irregularis* Isolated from Nigerian Crude Oil-Polluted Sites. *Microorganisms*, 2-4.
- Gómez , M., León , J., & Rodríguez , C. A. (2018). Producción de láminas de hongos para la enseñanza. *Hechos microbiológicos*, 9-11.
- López-Jácome, L. E., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación en discapacidad*, 10-18.
- Abeer, M., Monira, R., Sameh, M., & Shereen, M. (2021). Evaluation of crude oil biodegradation using mixed fungal cultures. *Plos One* , 16(8). Obtenido de <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0256376>
- Alarcon, E., Castro, D., Parente, J., & Leon, D. (2020). biologia de los suelos amazonicos. *SINCHI*, 144- 151. Obtenido de <https://sinchi.org.co/files/SUBDIRECCION%20CIENTIFICA/ECOSISTEMAS/EN%20EJECUCION/2021/Biologi%CC%81a%20de%20suelos%20amazo%CC%81nic os>.
- Alsohaili, S. A., & Bani-Hasan, B. M. (2018). Morphological and Molecular Identification of Fungi Isolated from Different Environmental Sources in the Northern Eastern Desert of Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences* , 329-337.
- Andrade, J., Mafla, S., Riofrío, K., & Hernández, J. (2024). Hydrocarbon tolerance evaluation of the microbiota associated with the Roystonea oleracea palm from Santay Island (Ecuador). *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* , 1-16. doi:doi:10.1088/1755-1315/1434/1/012005
- Barnes, M., Khodse, V., Lotlikar, N., Meena, R., & Damare, S. (2017). Bioremediation potential of hydrocarbon-utilizing fungi from select marine niches of India. *PubMed Central*, 18(1). doi:doi: 10.1007/s13205-017-1043-8
- Bassazin, A., Tadele, A., & Melkamu, B. (2024). Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: a review on principles, degradation mechanisms, and advancements. *Frontiers in Environmental Science*, 12. doi:https://doi.org/10.3389/fenvs.2024.1354422
- Beltrán-García, M. J., Ogura-Fujii, T., Manzo-Sánchez, G., & Arias-Castro, C. (2006). Catalasas de Hongos Fitopatógenos: ¿Factores de Virulencia y Resistencia a los Fungicidas? *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 50-58. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61224108>
- Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1). doi:DOI: <https://doi.org/10.25127/ucni.v1i1.269>
- Daâssi, D., & Almaghribi, F. (2022). Petroleum-contaminated soil: environmental occurrence and remediation strategies. *PubMed Central* , 12(6), 25. doi:10.1007/s13205-022-03198-z
- Das, N., & Chandran, P. (2010). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnol Res Int*, 1-5. doi:doi: 10.4061/2011/941810
- Dinakarkumar, Y., Ramakrishnan, G., Koteswara, R., Vasu, V., Balamurugan, P., & Murali, G. (2024). Fungal bioremediation: An overview of the mechanisms, applications



- and future perspectives. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 6, 293-302. doi:<https://doi.org/10.1016/j.enceco.2024.07.002>
- Geoffrey, G. (2017). Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycological Research*, 111(1), 3-49. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.12.001>
- Gómez A., S., Sarmiento, L., & Delgado, D. (2014). Caracterización de microorganismos celulolíticos y amilolíticos de residuos sólidos orgánicos dispuestos en la planta Ecosangil del municipio de San Gil, Santander. *Matices Tecnológicos*, 31-32.
- Gómez, M. (2018). Producción de láminas de hongos para la enseñanza. *Hechos microbiológicos*, 9-11.
- Gómez-Garzón, M., León-Enciso, J., & Rodríguez-Rodríguez, C. A. (2018). Producción de láminas de hongos para la enseñanza. *Hechos microbiológicos*, 9-11.
- Gutierrez, M., & Favela, E. (2018). ESTUDIOS DE TOXICIDAD Y BIODEGRADACION DE HIDROCARBUROS. *Ciencias Biológicas y de la Salud*, 1, 10-50.
- Ishfaq, M., Mahmood, N., Akbar, M., Nasir, I., & Saleem, M. (2019). Informe- Caracterización bioquímica y molecular de la enzima catalasa en el hongo sapróbico: *Sordaria fimicola*. *PubMed*.
- Kumari, B., Singh, N., & Singh, D. (2015). ROLE OF FUNGI IN THE BIODEGRADATION OF CRUDE OIL. *J. Exp. Zool. India*, 18(1), 13-21. Obtenido de https://connectjournals.com/file_full_text/2417400H_13-21.pdf
- MacFadden, W., & Baltimore, W. (1980). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. Second Edition. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 31(1), 527. doi:<https://doi.org/10.1099/00207713-31-1-108>
- Mahmud, T., Alhaji, I., & Lambu, Z. (2022). Hydrocarbon Degradation Potentials of Fungi: A Review. *Journal of Environmental Bioremediation and Toxicology*, 5(1), 50-56. doi:DOI:10.54987/jebat.v5i1.681
- Marín, F., Navarrete, H., & Narvaez-Trujillo, A. (2018). Total Petroleum Hydrocarbon Degradation by Endophytic Fungi from the Ecuadorian Amazon. *Advances in Microbiology*, 8(12). doi:DOI: 10.4236/aim.2018.812070
- Medaura, C., Guivernau, M., Moreno, X., Prenafeta, F., & Viñas, M. (2021). Bioaugmentation of Native Fungi, an Efficient Strategy for the Bioremediation of an Aged Industrially Polluted Soil With Heavy Hydrocarbons. *Frontiers in Microbiology*. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.626436>
- Miranda, M., & Javier, F. (2018). Biodegradacion de hidrocarburos totales de petroleo por Hongos Endofitos de la Amazonia Ecuatoriana. *Ciencias Biológicas Puce*, 1-20. Obtenido de <https://repositorio.puce.edu.ec/handle/123456789/20712>
- Moreira, F., Arias, F., Fazzano, S., Lenartovicz, V., Marques, C., & Peralta, R. (2020). Production of amylases by *Aspergillus tamarii*. *Basic Microbiology*, 30(2). doi: <https://doi.org/10.1590/S0001-37141999000200014>
- Moussango, V. D., Voundi, O. S., Tchabong, R. S., Bedine-Boat, M. A., Ntah- Ayong, M., Cazanevscaia-Busuioc, A., . . . M. (2025). Caracterización morfológica, fisiológica, bioquímica y molecular de especies fúngicas asociadas con la podredumbre de la papaya en Camerún. *PubMed*, 4-7.
- Navarro- Moreno, L., Rangel -Cordero, A., Nolasco- Hipólito, C., & Felipe-Collado, L. (2022). Chemical degradation of pet and its metabolism by fungal consortia. *South Florida Journal of Development*, 3(1), 1492-1506. Obtenido de <https://ojs.southfloridapublishing.com/ojs/index.php/jdev/article/view/1195>



- Nilanjana, D., & Preethy, C. (2020). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnology Research International*, 9418(10), 10-13. doi: <https://doi.org/10.4061/2011/941810>Digital Object Identifier (DOI)
- Nilsson, R., L. K., Taylor, A., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T., Schigel, D., & Abarenkov, K. (2012). The UNITE database for molecular identification of fungi: Handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*, 47(1), 259-264. doi:<https://doi.org/10.1093/nar/gky1022>
- Olumuyiwa, E. O., Ajetunmobi, M. T., & Adeniji, O. F. (2025). Identificación morfológica y molecular de hongos aislados de manzanas deterioradas en la metrópolis de Ota. *Microbiología BMC*, 6-10.
- Pernía, B., Demey, J., Inojosa, Y., & Naranjo, L. (2012). Biodiversidad y potencial hidrocarbonoclastico de hongos aislados de crudo y sus derivados: Un meta-análisis. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 3(1-24). Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Leopoldo-Naranjo-Briceno/publication/260137177_Biodiversidad_y_potencial_hidrocarbonoclastico_de_hongos_aislados_de_crudo_y_sus_derivados_Un_meta-analisis_Biodiversity_and_hydrocarbonoclastic_potencial_of_fungi_isolate
- Ramdas, A., & Sefhra, N. (2021). Diversity and Oil Degradation Potential of Culturable Microbes Isolated from Chronically Contaminated Soils in Trinidad. *Environmental Microbiology*, 9(6), 1167. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms9061167>
- Reyes-Sosa, M., & Arena, L. (2017). Bacterias y hongos con potencial biodegradador de hidrocarburos en diversos ambientes. *Microbiología ambiental*, 246-264. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/331962873_Bacterias_y_hongos_con_potencial_biodegradador_de_hidrocarburos_en_diversos_ambientes
- Salvamani, S., & Mohammad, N. (2014). Macroscopic And Microscopic Approaches For Identification Of Fungi From Plant Soil Of Cameron Highlands. *BIOREMEDIATION SCIENCE & TECHNOLOGY RESEARCH*, 2(1), 14-18. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/359678847_Macroscopic_And_Microscopic_Approaches_For_Identification_Of_Fungi_From_Plant_Soil_Of_Cameron_Highlands
- Sari, M., Novianty, R., Awaluddin, A., & Saryono, S. (2019). Effectiveness of crude oil degrading fungi isolated from petroleum hydrocarbon contaminated soil in Siak, Riau. *Acta Biochimica Indonesia*, 2(1), 15-22. doi:DOI: 10.32889/actabioina.v2i1.35
- Schoch, C., Seifert, K., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J., & Levesque, C. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. Proceedings of the National Academy of Sciences. *Fungal Barcoding Consortium.*, 109(16), 6241-6246. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Sunita, V. (2019). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 223, 277-286. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.037>
- Tille, P. (2024). *Diagnostic microbiology*. Evolve . Obtenido de <https://evolve.elsevier.com/cs/product/9780323681056?role=student>
- Valdez Saldaña, D., Salcedo Martínez, S., & Rocha Estrada, A. (2023). BIORREMEDIACIÓN Y SU IMPORTANCIA EN LOS ECOSISTEMAS. *Botánica aplicada*, 6-7.



Zamora, A., Ramos, J., & Arias, M. (2012). Efecto de la contaminación por hidrocarburos sobre algunas propiedades químicas y microbiológicas de un suelo de sabana. *Scielo*, 5-12.

Zeinab, R., & Hamid, M. (2024). Fungal-bacterial consortia: A promising strategy for the removal of petroleum hydrocarbons. *Ecotoxicol Environ Saf*, 15(280), 116- 543. doi: DOI: 10.1016/j.ecoenv.2024.116543