

Evaluación del potencial micorremediador de cinco cepas de hongos de las especies: *Flabellophora abovata*, *Hormodermoporus martius*, *Earliella scabrosa*, *Tintoporellus epimiltinus* y *Favolus brasiliensis* mediante la determinación de su actividad enzimática.

Evaluation of the mycoremediation potential of five fungal strains of the species: *Flabellophora abovata*, *Hormodermoporus martius*, *Earliella scabrosa*, *Tintoporellus epimiltinus* and *Favolus brasiliensis* by determining their enzymatic activity.

Galo Israel Cáceres Guillén

1) Resumen:

La contaminación del suelo por hidrocarburos es un problema global que afecta la estabilidad de los ecosistemas y la salud pública. En ese sentido, este estudio, se centra en la evaluación del potencial de la micorremediación de suelos contaminados en la Amazonía ecuatoriana, utilizando hongos de pudrición blanca nativos del Parque Nacional Yasuní. Con lo anteriormente detallado, se evaluaron las propiedades enzimáticas de las cepas: *Flabellophora abovata*, *Hormodermoporus martius*, *Earliella scabrosa*, *Tintoporellus epimiltinus* y *Favolus brasiliensis*. Es decir, las pruebas incluyeron: el crecimiento a diferentes temperaturas, la decoloración de Remazol Brilliant Blue R (RBBR,) la oxidación de guaiacol y ácido gálico, y la tolerancia al diésel. Finalmente, los resultados mostraron que cuatro de las cinco cepas, poseen un alto potencial micorremediador, destacándose por su capacidad de tolerar el diésel y producir enzimas como la lacasa; lo que las convierte en candidatas prometedoras para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Abstract:

Soil contamination by hydrocarbons is a global problem that affects the stability of ecosystems and public health. This study focuses on the mycoremediation of

contaminated soils in the Ecuadorian Amazon, using native fungi from the Yasuní National Park. The enzymatic properties of the *Flabellophora abovata*, *Hormodermoporus martius*, *Earliella scabrosa*, *Tintoporellus epimiltinus* and *Favolus brasiliensis* strains were evaluated. Tests included growth at different temperatures, Remazol Brilliant Blue R (RBBR) discoloration, guaiacol and gallic acid oxidation, and diesel tolerance. The results showed that four of the five strains have a high mycoremediation potential, standing out for their ability to tolerate diesel and produce enzymes such as laccase, which makes them promising candidates for the remediation of soils contaminated with hydrocarbons.

Palabras clave: Hidrocarburos, Micorremediación, actividad enzimática, enzimas ligninolíticas, hongos de pudrición blanca.

2) Introducción:

La contaminación del suelo por hidrocarburos emerge como un desafío ambiental de proporciones globales, cuya complejidad y persistencia amenazan la estabilidad de los ecosistemas y la salud pública (Adeniran et al., 2023). Dado que, en un mundo marcado por el desarrollo industrial y la creciente dependencia de recursos como el petróleo, la preservación de la calidad del suelo se convierte en una tarea crucial para garantizar la sostenibilidad ambiental a largo plazo. Por ende, la magnitud de esta problemática se intensifica en áreas altamente industrializadas y explotadas, donde la liberación accidental de hidrocarburos ya sea por derrames de petróleo o por otros medios, provoca consecuencias devastadoras como problemas de salud humana y animal (Mendelssohn et al., 2012). En ese sentido, la Amazonía ecuatoriana, rica en biodiversidad y recursos naturales, no es inmune a esta realidad. Ya que, a lo largo de décadas de actividad petrolera, la región ha sido testigo de múltiples incidentes de contaminación que han dejado un rastro de degradación ambiental y conflictos socioambientales. En suma, la interacción entre la actividad humana y los ecosistemas frágiles de la Amazonía ha generado una compleja red de impactos que van desde la pérdida de biodiversidad hasta la afectación de la salud humana de las comunidades locales (Jha C Dahiya, 2022).

Por otro lado, la relevancia de abordar la contaminación del suelo por hidrocarburos radica en su capacidad para desencadenar efectos adversos de larga duración en los sistemas naturales y en la salud humana (Steliga C Kluk, 2021). Cabe señalar que, entre todas las clasificaciones de hidrocarburos que existen, se va a analizar la degradación de

los Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPHs, por sus siglas en inglés). En cuanto a los TPHs, son una mezcla de productos químicos que consisten principalmente en hidrógeno y carbono. Por lo tanto, los científicos han dividido a estos en grupos de hidrocarburos de petróleo que se comportan de manera similar en el suelo o el agua; estos grupos se denominan fracciones de hidrocarburos de petróleo. En concreto, la persistencia de estos contaminantes y su capacidad para bioacumularse en el medio ambiente, representan una amenaza latente para la estabilidad de los ecosistemas terrestres y acuáticos, así como para la seguridad alimentaria y la salud de las comunidades que dependen de estos recursos (Abdel-Shafy C Mansour, 2016). Además, la contaminación del suelo por hidrocarburos tiene ramificaciones económicas, sociales y políticas significativas, que van desde el deterioro de los medios de subsistencia locales, hasta el aumento de los costos de remediación y atención médica. En este sentido, abordar esta problemática no solo es una cuestión de responsabilidad ambiental, sino también, un imperativo ético y económico que requiere acciones concretas y colaborativas a nivel local, nacional e internacional.

No obstante, se han explorado diversas estrategias de remediación, desde métodos físicos y químicos hasta enfoques biológicos como la biorremediación y la micorremediación (Das C Chandran, 2011). Por ende, el uso de microorganismos en la biorremediación representa una herramienta crucial en la lucha contra los problemas ambientales actuales. Puesto que, estos organismos, que incluyen bacterias, hongos y otros microbios, poseen la capacidad única de degradar una amplia gama de contaminantes, desde hidrocarburos hasta metales pesados; convirtiéndolos en compuestos menos tóxicos o inofensivos para el medio ambiente (Haritash C Kaushik, 2009). En particular, este enfoque no solo ofrece una alternativa sostenible a los métodos convencionales de limpieza, sino que también, es menos invasivo y más económico en muchos casos (Das C Chandran, 2011). Así mismo, los microorganismos pueden adaptarse a una variedad de condiciones ambientales y trabajar en sinergia con los ecosistemas naturales (Dvořák et al., 2017), lo que los convierte en una herramienta valiosa para restaurar la salud de suelos, agua y aire contaminados. En concreto, desde la limpieza de derrames de petróleo hasta la descontaminación de sitios industriales, el uso de microorganismos promete soluciones efectivas y a largo plazo para los desafíos ambientales actuales. Para ser más específicos, el uso de hongos como agentes de biorremediación ha ganado atención debido a su capacidad para degradar una amplia gama de contaminantes orgánicos, incluidos los

hidrocarburos, mediante la producción de enzimas especializadas (Li et al., 2020). Por tanto, las enzimas son catalizadores biológicos fundamentales en el proceso de micorremediación; estas proteínas, aceleran las reacciones químicas involucradas en la descomposición de compuestos tóxicos, facilitando así la eliminación de contaminantes del suelo, agua o aire. Es por esto que, su especificidad y eficiencia hacen que las enzimas sean herramientas clave para la reducción de tiempo y costos en procesos de gran escala. En tal sentido, entre las enzimas de interés se encuentran: lacasa, manganeso peroxidasa, lignina peroxidasa y peroxidasa versátil; las cuales, han reportado capacidad de eliminar una amplia gama de hidrocarburos totales de petróleo y otros compuestos orgánicos como: pesticidas, productos químicos y farmacéuticos. En definitiva, estos avances científicos han allanado el camino para nuevas investigaciones que buscan optimizar y aplicar estas tecnologías en entornos contaminados, como la región amazónica de Ecuador.

En este contexto, se necesita abordar la siguiente pregunta: ¿Cómo se pueden utilizar los hongos de manera efectiva para remediar la contaminación del suelo por hidrocarburos en la Amazonía ecuatoriana, especialmente en áreas afectadas por derrames de petróleo y la actividad industrial asociada?

En síntesis, el objetivo principal de este estudio es evaluar las propiedades enzimáticas de hongos de las especies nativas del Parque Nacional Yasuní, las especies analizadas serán: *Flabellophora abovata*, *Hormodermoporus martius*, *Earliella scabrosa*, *Tintoporellus epimiltinus* y *Favolus brasiliensi*. Aquello, con el afán de evaluar la viabilidad para su uso en estrategias de micorremediación.

3) Materiales y método

3.1) Cepas fúngicas

Para ser más específicos, todos los hongos empleados en este proyecto son parte del Fungario QCAM de la PUCE y fueron recolectados en el Parque Yasuní durante el mes de agosto de 2022. Con dicho antecedente, es pertinente indicar que, el proceso de aislamiento, purificación e identificación molecular se llevó a cabo en el laboratorio de micología de Nayón. De manera puntual, se utilizaron cepas de trabajo para llevar a cabo todos los ensayos que formaron parte de esta investigación. Precisamente, los hongos utilizados pertenecen a la división Basidiomycota y abarcan diferentes géneros, incluyendo las especies. Específicamente, la *Tabla 1* muestra las especies analizadas con

su respectivo código. Vale la pena recalcar, que se utilizó *Trametes versicolor* como control positivo.

Tabla 1. Identificación de cepas fúngicas

Cepas	Código
<i>Earliella scabrosa</i>	A
<i>Tintoporellus epimiltinus</i>	B
<i>Favolus brasilensis</i>	C
<i>Flabellophora abovata</i>	D
<i>Hormodermiporus martius</i>	E
<i>Trametes versicolor</i>	F

3.2) Temperatura óptima de crecimiento

Dicho lo anterior, se inoculó un disco de 5 mm de diámetro de cada especie fúngica, en Agar Extracto de Malta (MEA) 2%, utilizando la técnica sándwich. Luego, los hongos se incubaron en quintuplicado a 24 °C y 30 °C durante 8 días, para determinar su temperatura óptima de crecimiento. Específicamente, la tasa de crecimiento se midió en mm/día al octavo día.

3.3) Prueba de decoloración (RBRR)

Por otro lado, se inoculó MEA 2% con 50 mg/L de RBRR por la técnica sándwich, utilizando un disco de 5 mm de diámetro (previamente cultivado por 14 días), de cada especie fúngica, para determinar la producción de lacasa (Batista-García et al., 2017). También, se realizaron pruebas por quintuplicado. De igual modo, las placas se incubaron a la temperatura óptima de crecimiento y se analizaron visualmente cada dos días para determinar la decoloración total en la placa de Petri en mm/día.

3.4) Prueba de Guaiacol

De igual manera, se inoculó MEA 2% con 0,2% (v/v) de guaiacol por la técnica sándwich, utilizando un disco de 5 mm de diámetro (previamente cultivado por 14 días), de cada especie fúngica, para determinar la producción de lacasa y peroxidasa. Por ende, se evaluó la actividad de enzimas ligninolíticas mediante la oxidación de guaiacol, generando una coloración marrón rojiza como resultado de la reacción (Batista-García et al., 2017). Por lo tanto, se realizaron pruebas por triplicado. En definitiva, las placas se incubaron a la

temperatura óptima de crecimiento y se analizaron visualmente al cumplir 7 días de incubación, para determinar la formación del color marrón rojizo.

3.5) Prueba de ácido gálico

Ahora bien, se inoculó MEA con 0,45 g/L de ácido gálico por la técnica sándwich, utilizando un disco de 5 mm de diámetro (previamente cultivado por 14 días), de cada especie fúngica, para determinar la producción de enzimas ligninolíticas mediante la oxidación de ácido gálico, generando a una coloración marrón como resultado de la reacción (Batista-García et al., 2017). En ese sentido, Se realizaron pruebas por triplicado. En suma, las placas se incubaron a la temperatura óptima de crecimiento y se analizaron visualmente cada dos días para determinar la formación del color marrón.

3.6) Tolerancia a diésel

Especialmente, se inoculo por quintuplicado en medio MEA con 0,1% de diésel y 0,1% de Tween 80 por la técnica sándwich, utilizando un disco de 5 mm de diámetro (previamente cultivado por 14 días), de cada especie fúngica, para evaluar la tolerancia de los hongos al diésel. Así que, el diésel y el Tween se esterilizaron por filtración (0,2 µm). Además, se realizó un cultivo control con las 7 especies, inoculándolas en placas de MEA sin diésel. Por lo tanto, las placas se incubaron durante 7 días a 24°C. Después de los siete días, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio (%ICM) (Ebadzadsahrai et al., 2020). Precisamente, el cálculo se hizo según la ecuación 1:

$$\%ICM = 100 * ((GC - GT) / GC)$$

Dónde:

GC: se refiere al control de crecimiento y representa el diámetro medio de los hongos cultivados en MEA (Agar Malta Extracto). Por otro lado, GT: se refiere al tratamiento de crecimiento y corresponde al diámetro medio obtenido a partir de tres réplicas de hongos expuestos al diésel.

3.7) Determinación cuantitativa de lacasa por UV-visible

Luego, la determinación de actividad enzimática se realizó en matraces Erlenmeyer de 125 mL que contenían 50 mL del medio mineral basal Tien y Krik (1988). Especialmente, este medio salino estimula la producción de enzimas ligninolíticas. Por lo tanto, su composición por litro fue: 0,2 g tartrato amónico, 3,28 g acetato sódico, 0,002 g tiamina,

2 g KH₂PO₄, 0,53 g MgSO₄·7H₂O, 0,1 g CaCl₂, 0,001 g CuSO₄, 0,005 g MnSO₄, 0,0001 g H₃BO₃, 0,0001 g NaMoO₄·2H₂O, 0,001 g ZnSO₄·7H₂O, 0,001 g CoCl₂, 0,01 g NaCl y 0,001 g FeSO₄·7H₂O; el experimento se realizó a 25°C y 75 rpm. En ese sentido, la actividad de lacasa, fue medida durante 30 días, cada dos días, por espectrofotómetro UV-Vis. También, se utilizó una solución 0,5 mM de ABTS y un tampón citrato/fosfato pH 4 a 420 nm (ϵ : 36000).

3.8) Análisis estadístico

Con lo anteriormente expuesto, se realizó un análisis estadístico, utilizando el coeficiente de correlación de Spearman, para evaluar la relación entre las diferentes variables obtenidas de las cepas de hongos y su actividad enzimática. Precisamente, el coeficiente de correlación de Spearman es una medida estadística utilizada para evaluar la relación entre dos variables ordinales, es decir, variables que pueden ser ordenadas o clasificadas. A diferencia del coeficiente de correlación de Pearson, Spearman no asume que las variables tengan una relación lineal o que sigan una distribución normal (*Spearman Correlation in Data Analysis*, n.d.). Por consiguiente, el objetivo principal fue determinar si existía una correlación significativa entre estas dos variables en el contexto de la evaluación de su capacidad para la remediación de contaminantes ambientales, como los TPHs.

4) Resultados y discusión

4.1) Temperatura óptima de crecimiento

En definitiva, la figura 1 muestra los resultados obtenidos en el ensayo de temperatura de crecimiento. Dado que, se observó que a 30°C todos los hongos crecieron sin ningún inconveniente, cubriendo por completo las cajas petri de 8,5 cm de diámetro. Específicamente, la cepa *Tintoporellus epimiltinus* fue la única especie que no logró ocupar por completo el espacio de 8.5 cm que contienen las cajas petris utilizadas con un promedio de crecimiento de 8,45 cm de diámetro. Cabe recalcar que, en ensayos de biorremediación, la temperatura óptima de crecimiento oscila entre 28°C y 31°C (Umanu C Dodo, 2013). Es importante mencionar que, en las partes más bajas de la selva del Yasuní, las temperaturas promedio pueden oscilar entre los 23°C y los 26°C durante todo el año (Finer et al., 2009). Sin embargo, es importante mencionar que todos los hongos estudiados también tuvieron un crecimiento óptimo a 24°C excepto por la cepa B. Por esta razón, se decidió realizar los ensayos a 30°C.

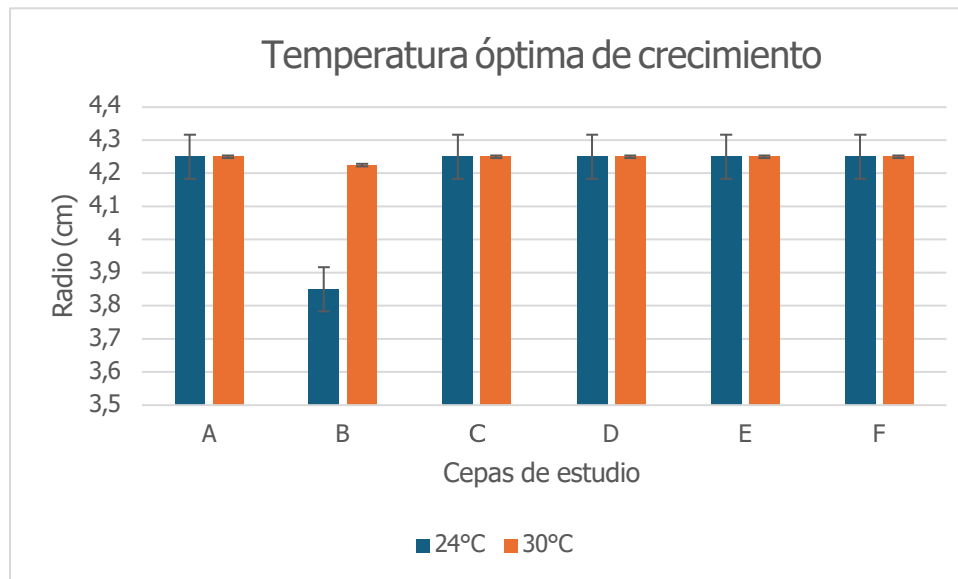


Figura 1. Promedio de crecimiento micelar a 24°C y 30°C

4.2) Prueba de decoloración (RBRR)

Ahora veamos, la enzima lacasa interviene en la decoloración del tinte RBRR al oxidar y descomponer los compuestos antraquinónicos. Durante esta reacción, se generan radicales libres y compuestos quinónicos, lo que conlleva a la ruptura y desintegración de la estructura molecular del tinte, resultando en un cambio en su color. Este cambio, se debe a la modificación o eliminación de los grupos cromóforos responsables de su tonalidad (Parimelazhagan et al., 2022). Los resultados obtenidos demuestran que las cepas B y D (Figura 2) tienen el mejor potencial para poder procesar el tinte RBRR, puesto que, tuvieron un crecimiento completo. Es relevante señalar que, la cepa E no degradó en lo absoluto el RBRR en el medio. Por ende, la capacidad de inhibir el crecimiento micelar del RBRR según, Gao et al., 2023 corrobora variabilidad de los resultados obtenidos. De igual modo, la capacidad de una cepa de hongo para degradar el tinte RBRR puede indicar su capacidad potencial para degradar otros contaminantes

orgánicos, como los hidrocarburos, debido a la similitud en los procesos y las enzimas involucradas en la degradación de estos compuestos.

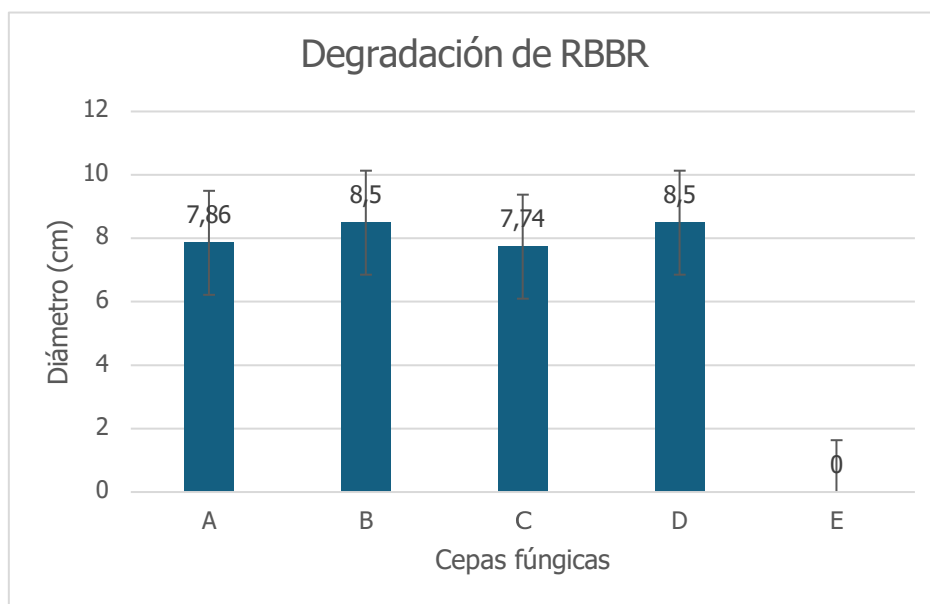


Figura 2. Promedio de degradación de RBBR

4.3) Prueba de Guaiacol

Por su parte, la oxidación del guaiacol es una prueba ampliamente utilizada para evaluar la actividad enzimática en estudios de biorremediación. Usualmente, las enzimas lacasa y peroxidasa oxidan el grupo hidroxilo (-OH) del guaiacol, formando un aldehído que produce una coloración marrón rojiza (Batista et al., 2017). En suma, los resultados de este ensayo revelaron que 4 de las 5 cepas estudiadas mostraron una reacción positiva en la oxidación del guaiacol (Tabla 2), indicando así la presencia de las enzimas lacasa y peroxidasa. Por otro lado, la cepa D fue la única en la que no se observó cambio de color ni alguna reacción positiva, lo que sugiere no tener las mismas propiedades enzimáticas que el resto de las cepas. Finalmente, los resultados positivos en el ensayo de oxidación del guaiacol indican que las cepas estudiadas tienen el potencial de degradar compuestos orgánicos, como el tinte RBBR, a través de la acción de las enzimas.

4.4) Prueba de ácido gálico

Por otro lado, la actividad de enzimas ligninolíticas, conduce a la oxidación del ácido gálico, produciendo una forma quinónica que se manifiesta con un tono marrón (Batista-García et al., 2017). Es decir, tanto el ácido gálico, como el RBBR, son compuestos que inhiben el crecimiento de hongos. Como resultado, se observó que la mayoría de las

cepas reaccionaron cambiando de color; la mayoría adquirió un tono café intenso, mientras que la cepa D mostró una reacción más leve, manifestando un color café amarillento; la cepa D, podría producir diferentes tipos de enzimas ligninolíticas que son menos eficientes en la oxidación del ácido gálico. Aquello, podría llevar a una menor producción de la forma quinónica que da el color marrón. Esto, indica que todas las cepas poseen enzimas capaces de reaccionar con el ácido gálico. No obstante, podemos suponer que la cepa D no comparte las mismas características enzimáticas presentes en el resto de las cepas. Ya que, la intensidad del color observado después de una reacción química puede ser un indicador cualitativo de la actividad enzimática y la eficiencia del proceso de degradación. Específicamente, una intensidad de color más fuerte, generalmente sugiere una mayor actividad enzimática y una degradación más eficiente del sustrato; mientras que, una intensidad de color más débil puede indicar una actividad enzimática reducida o menos eficiente (Saad et al., 2023).

4.5) Tolerancia a diésel

Como resultado, la cepa E presentó un %ICM de 56.4% lo que significa que el crecimiento de esta cepa se ve afectado por la presencia de diésel. Mientras que, la cepa D demostró que no tiene inhibición al diésel siendo que presentó 0% en el %ICM siendo la cepa con mejor rendimiento. Las cepas A, B y C presentaron un %ICM menor al 25%. En las pruebas realizadas por Batista et al. (2017) trabajaron con cepas fúngicas de la división Basidiomycota para evaluar la tolerancia a hidrocarburos, las cepas que tuvieron un índice de ICM bajo, se las considero aptas para procesos biotecnológicos. Por lo que, comparando con los resultados obtenidos, se puede decir que: el 80% de las cepas (A, B, C y D) son óptimas para más estudios biotecnológicos y para biorremediación (Tabla 2).

Tabla 2. Resumen de las pruebas realizadas a las cepas de estudio

Cepas	Código	Promedio de crecimiento		Crecimiento en diferentes medios			% MGI (0,1)
		24°C	30°C	Promedio RBBR	Guaiacol	Ácido gálico	
<i>Earliella scabrosa</i>	A	4,25	4,25	7,86	+	Café	15,3
<i>Tintoporellus epimiltinus</i>	B	3,85	4,225	8,5	+	Café	1,78
<i>Favolus brasiliensis</i>	C	4,25	4,25	7,74	+	Café	22,35
<i>Flabellophora abovata</i>	D	4,25	4,25	8,5	-	Café/amarillo	0
<i>Hormodermiporus martius</i>	E	4,25	4,25	8,5	+	Café	56,4
<i>Trametes versicolor</i>	F	4,25	4,25	8,5	+	Café	0

4.6) Determinación cuantitativa de lacasa por UV-visible

En definitiva, para evaluar la actividad enzimática de las cepas, se emplearon los datos recopilados en los tres últimos días de actividad enzimática, período en el que se registró la actividad enzimática más elevada durante el experimento. En particular, para todas las cepas, el día 16 se destacó como el día con la mayor actividad enzimática (Figura 3). Es pertinente señalar que, para dos de las cepas estudiadas (B y D) presentaron el mayor índice de producción de lacasa; mientras que, las cepas (A y E) presentaron la menor producción. No obstante, la cepa E sufrió más número de pases para lograr la purificación de la cepa ya que este constantemente sufría de contaminaciones. Por esta razón, pudo sufrir cambios en la expresión de genes que producen las enzimas de interés siendo como resultado que no sea capaz de producir lacasas (Underkofler et al., n.d.). En síntesis, en la evaluación cuantitativa de la actividad de la lacasa mediante UV-Visible, se midió la actividad de esta enzima para analizar cómo varía su producción durante un periodo de tiempo establecido.

Por lo tanto, para llevar a cabo las reacciones cinéticas, se empleó el sustrato ABTS, el cual es oxidado por la enzima lacasa, generando un cambio de color como resultado (Batista-García et al., 2017). Es importante manifestar, que el ABTS es un compuesto químico utilizado para cuantificar la actividad enzimática. Por su parte, la lacasa tiene la capacidad de transferir electrones al ABTS a través de reacciones de oxidación-reducción. Durante esta reacción, la lacasa transfiere electrones al radical catiónico del ABTS, lo que conduce a su reducción a la forma incolora y no absorbente del compuesto ABTS (Collins, 1998). Por ende, si hay actividad enzimática, se observará un cambio de coloración hacia tonos azules o verdes. En definitiva, las cepas A, B, C y D presentaron

este cambio de color azul o verde; mientras que, la cepa E no mostró el cambio al comparar los resultados de las 4 pruebas realizadas se evidencia.

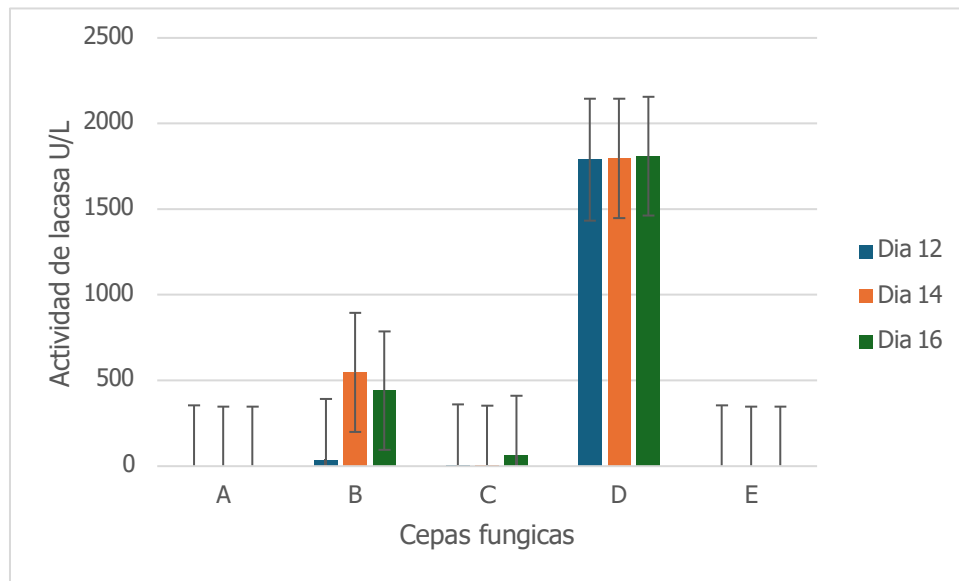


Figura 3. Determinación cuantitativa de lacasa por UV-visible

4.7) Análisis estadístico

De manera puntual, en el estudio estadístico, se exploraron las relaciones entre la decoloración del tinte RBBR y la actividad máxima de la enzima lacasa; así como, entre el índice de crecimiento micelial (ICM) al 0.1% y el día de mayor producción de lacasa. Detalladamente, se utilizó un nivel de significancia del 5% ($\alpha = 0.05$), conforme a la convención de considerar que los resultados son "significativos" si alcanzan un nivel de alfa del 5%. Este enfoque, asegura que cualquier relación observada entre la actividad enzimática y el potencial de micorremediación no sea simplemente atribuible al azar.

En consecuencia, los análisis revelaron un coeficiente de correlación de Spearman de 0.0875 entre las variables RBBR y la producción de lacasa; y, un coeficiente de correlación de 0.55 entre la actividad de lacasa y el %ICM al 0.1%. No obstante, basándonos en los resultados estadísticos, concluimos que no hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula. Esto indica que no existe una correlación directa significativa entre la producción de lacasa y la degradación del RBBR, ni tampoco entre el RBBR y la inhibición del crecimiento micelial. Además, los análisis de correlación de Spearman entre la actividad enzimática y el potencial de micorremediación de los hongos respaldan la ausencia de una relación significativa entre estas variables

5) Conclusiones

1. Las cepas fúngicas endémicas del Parque Nacional Yasuní-Ecuador, pertenecientes a los géneros *Earliella*, *Tintoporellus*, *Favolus*, *Flabellophora* presentaron favorables y similares a *Trametes versicolor*. Por el contrario, *Hormodermiporus* presentó en 2 de las pruebas cualitativas diferencias importantes, sin mencionar la carencia de producción de la enzima lacasa. Únicamente *Flabellophora* presentó una alta producción de la enzima lacasa en la determinación cuantitativa como en las cualitativas.
2. Por su parte, se determinó que 4 de las 5 cepas fúngicas analizadas poseen un alto potencial micorremediador. Ya que, 4 de las cepas estudiadas son tolerantes al diésel, indicando que su crecimiento no se inhibió en presencia del diésel. Dejando evidenciado que, no todos los hongos de la podredumbre blanca son buenos productores de enzimas, como la lacasa. Enzima que les permitirá sobrevivir en ambientes tóxicos como es el diésel. Por lo que solo *Earliella scabrosa*, *Tintoporellus epimiltinus*, *Favolus brasiliensis* y *Flabellophora abovata* son candidatos potenciales para aplicaciones biotecnológicas en la micorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Referencias

- Abdel-Shafy, H. I., C Mansour, M. S. M. (2016). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. In *Egyptian Journal of Petroleum* (Vol. 25, Issue 1, pp. 107–123). Egyptian Petroleum Research Institute. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>
- Adeniran, M. A., Oladunjoye, M. A., C Doro, K. O. (2023). Soil and groundwater contamination by crude oil spillage: A review and implications for remediation projects in Nigeria. In *Frontiers in Environmental Science* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2023.1137496>
- Batista-García, R. A., Kumar, V. V., Ariste, A., Tovar-Herrera, O. E., Savary, O., Peidro-Guzmán, H., González-Abradelo, D., Jackson, S. A., Dobson, A. D. W., Sánchez-Carbente, M. del R., Folch-Mallol, J. L., Leduc, R., C Cabana, H. (2017). Simple screening protocol for identification of potential mycoremediation tools for the elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons and phenols from hyperalkalophile industrial effluents. *Journal of Environmental Management*, 158, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.05.010>

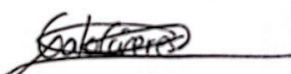
- Das, N., C Chandran, P. (2011). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnology Research International*, 2011, 1–13. <https://doi.org/10.4061/2011/941810>
- Dvořák, P., Nikel, P. I., Damborský, J., C de Lorenzo, V. (2017). Bioremediation 3.0: Engineering pollutant-removing bacteria in the times of systemic biology. In *Biotechnology Advances* (Vol. 35, Issue 7, pp. 845–866). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.08.001>
- Ebadzadsahrai, G., Higgins Keppler, E. A., Soby, S. D., C Bean, H. D. (2020). Inhibition of Fungal Growth and Induction of a Novel Volatilome in Response to *Chromobacterium vaccinii* Volatile Organic Compounds. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01035>
- Finer, M., Vijay, V., Ponce, F., Jenkins, C. N., C Kahn, T. R. (2009). Ecuador's Yasuní Biosphere Reserve: A brief modern history and conservation challenges. *Environmental Research Letters*, 4(3). <https://doi.org/10.1088/1748-9326/4/3/034005>
- Haritash, A. K., C Kaushik, C. P. (2009). Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. In *Journal of Hazardous Materials* (Vol. 169, Issues 1–3, pp. 1–15). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137>
- Jha, S., C Dahiya, P. (2022). Impact analysis of oil pollution on environment, marine, and soil communities. In *Advances in Oil-Water Separation: A Complete Guide for Physical, Chemical, and Biochemical Processes* (pp. 99–113). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89978-9.00017-3>
- Li, Q., Liu, J., C Gadd, G. M. (2020). Fungal bioremediation of soil co-contaminated with petroleum hydrocarbons and toxic metals. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 104, Issue 21, pp. 8999–9008). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10854-y>
- Mendelssohn, I. A., Andersen, G. L., Baltz, D. M., Caffey, R. H., Carman, K. R., Fleeger, J. W., Joye, S. B., Lin, Q., Maltby, E., Overton, E. B., C Rozas, L. P. (2012). Oil impacts on coastal wetlands: Implications for the Mississippi River delta ecosystem after the deepwater horizon oil spill. *BioScience*, c2(6), 562–574. <https://doi.org/10.1525/bio.2012.62.6.7>
- Parimelazhagan, V., Yashwath, P., Arukkani Pushparajan, D., C Carpenter, J. (2022). Rapid Removal of Toxic Remazol Brilliant Blue-R Dye from Aqueous Solutions Using *Juglans nigra* Shell Biomass Activated Carbon as Potential Adsorbent: Optimization, Isotherm, Kinetic, and Thermodynamic Investigation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20). <https://doi.org/10.3390/ijms232012484>
- Saad, M. M., Saad, A. M., Hassan, H. M., Ibrahim, E. I., Abdelraof, M., C Ali, B. A. (2023). Optimization of tannase production by *Aspergillus glaucus* in solid-state fermentation of black tea waste. *Bioresources and Bioprocessing*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s40643-023-00686-9>
- Spearman Correlation in Data Analysis*. (n.d.). Retrieved June 26, 2024, from <https://statisticseasily.com/spearman-correlation/>

Steliga, T., C Kluk, D. (2021). Assessment of the suitability of melilotus officinalis for phytoremediation of soil contaminated with petroleum hydrocarbons (TPH and PAH), Zn, Pb and Cd based on toxicological tests. *Toxics*, 5(7).
<https://doi.org/10.3390/toxics9070148>

Umanu, G., C Dodo, D. S. (2013). Assessment of Oil-Eating Fungi Isolated from Spent Engine Oil Polluted Soil Environments. In *The Pacific Journal of Science and Technology-c05* (Vol. 14, Issue 2). <http://www.akamaiuniversity.us/PJST.htm>

Underkofler, L. A., Barton, R. R., C Rennert, S. S. (n.d.). *Microbiological Process Report Production of Microbial Enzymes and Their Applications*.

Firma del estudiante y fecha



Galo Israel Cáceres Guillén

Quito, 07 de junio de 2024

Firma de la directora de disertación y fecha



Presentado electrónicamente por:
EVA ISABEL CIPRIANI
ÁVILA

Mtr. Eva Isabel Cipriani Ávila

Quito, 07 de junio de 2024

Firma del coordinador de la carrera

PhD. Diana Astorga Garcia

Quito, 07 de junio de 2024