

Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico*

Molecular identification of filamental fungi and its biotechnological potential

SUÁREZ-CONTRERAS, LILIANA-YANET¹; PEÑARANDA-FIGUEREDO, FREDDY-ARMANDO²

RESUMEN

Los hongos filamentosos son organismos frecuentemente utilizados en el desarrollo de alternativas para resolver desafíos en diferentes sectores productivos. Igualmente, representan una oportunidad competitiva de valor económico en sectores como el agrícola, alimenticio y farmacéutico como también en el industrial y de biocombustibles. Dando continuidad a investigaciones previas de la Universidad Francisco de Paula Santander (UFPS), se analizaron 25 muestras del banco de cepas para caracterización molecular e identificación taxonómica. Se obtuvo ADN de cada cepa con la técnica fenol-clo-

Historial del artículo

Recibido para evaluación: 23 Abril 2021.

Aprobado para publicación: 10 Noviembre 2021.

* Proyecto de investigación de origen: "Identificación molecular de los aislamientos de hongos conservados en el banco de cepas de la Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente de la Universidad Francisco de Paula Santander". Financiación: COLCIENCIAS-UFPS, convocatoria 753-2016. Finalización: mayo 30 de 2018.

1 Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, Grupo de investigación Ambiente y Vida. Magíster en Biología. Cúcuta, Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-8020-502X>

2 Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, Grupo de investigación Ambiente y Vida. Ingeniero Biotecnológico. Cúcuta, Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-0008-0667>

Correspondencia: lilianayanethsc@ufps.edu.co

Cómo citar este artículo: SUÁREZ-CONTRERAS, LILIANA-YANET; PEÑARANDA-FIGUEREDO, FREDDY-ARMANDO. Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, v. 20, n. 1, 2022, p. 194-206. Doi: <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n1.2022.1914>

roformo. Mediante las técnicas de PCR y de iniciadores de espaciadores internos de transcrito (ETS) primer 4 y 5, se obtuvieron los amplicones que fueron secuenciados. Se identificaron cepas de los ordenes Hypocreales, Eurotiales, Pleosporales y Saccharomycetales con ejemplares de géneros como el *Aspergillus*, *Curvularia*; *Purpureocillium*, *Penicillium* y *Trichoderma* entre otros. Los hallazgos se exhiben en el cladograma evidenciando la proximidad filogenética como también relacionando los potenciales biotecnológicos para el desarrollo de bio insumos, productos farmacéuticos y biocatalizadores. Gracias al estudio y revisión en bases de datos se logró avanzar en la descripción de las capacidades biológicas de estos hongos hacia el desarrollo de productos o servicios con base biotecnológica y enfoque de investigación en fitopatología.

ABSTRACT

*Filamentous fungi are organisms frequently used to develop alternatives to solve challenges in different productive representing a competitive opportunity with economic value in the agriculture, food and pharmaceutical, as well as industrial and biofuels sector. Continuing previous research at Universidad Francisco de Paula Santander (UFPS), 25 samples from the strain bank were used for molecular characterization and taxonomic identification. DNA from each strain was obtained under the phenol-chloroform procedure, then, using PCR technique and internal transcript spacer (ITS) primer 4 and 5, amplicons were acquired to be sequenced. Results showed taxonomy categorizations in 4 orders Hypocreales, Eurotiales, Pleosporales y Saccharomycetales with specimens from genus like *Aspergillus*, *Curvularia*; *Purpureocillium*, *Penicillium* y *Trichoderma* among others. Findings were laid into a cladogram to display their phylogenetic proximity, and connecting their biotechnological potential towards developing bio-materials, pharmaceutical products and bio-catalysts. Thanks to present study and data base review, it was possible to advance into describing the biological capabilities of these fungi towards developing biotechnological products and services with an approach in phytopathology research.*

INTRODUCCIÓN

Los hongos filamentosos o mohos se caracterizan por tener un soma vegetativo (talo) similar a las plantas, filamentos microscópicos continuos más o menos alargados y ramificados con paredes celulares definidas, la mayoría, constituidas por quitina, dispuestas en microfibrillas como la celulosa, además de otros polisacáridos como mananos, galactanos y quitosán reemplazan a la quitina en algunos grupos, con una la pared celular formada por carbohidratos (80-90 %), y son las proteínas, los lípidos, polifosfatos e iones inorgánicos el material cementante (Estrada *et al.*, 2019).

Muchos hongos son beneficiosos, al degradar la materia orgánica compleja convirtiéndola a formas químicas simples que pasan a formar parte del suelo, absorbidas por otras generaciones de plantas, encargándose de la fertilidad de la tierra. Pese a los perjuicios que pueden causar estos organismos a

PALABRAS CLAVES:

ADN; Bioprospección; Cladograma; Control biológico; Homología; ETS; Marcador molecular; Mohos; Patógeno; PCR.

KEYWORDS:

DNA; Bioprospecting; Cladogram; Biologic control; Homology; ITS; Molecular marker; Molds; Pathogen; PCR

otros seres vivos, incluyendo a humanos, son un grupo de organismos muy importantes y exitosos desde el punto de vista evolutivo trascendental para la vida en el planeta (Tellez *et al.*, 2017; Mancilla *et al.*, 2021).

Otros hongos filamentosos tienen potencial de aplicación biotecnológica en diferentes sectores productivos debido a su capacidad para producir antioxidantes (Smith *et al.*, 2015), ácidos grasos polinsaturados, enzimas industriales, antibióticos, productos fermentados (Wakai *et al.*, 2017), pigmentos que se utilizan en alimentos (Dufossé *et al.*, 2014), antifúngicos, agentes hipolipidémico e inmunosupresores (Alberti *et al.*, 2017), y debido a su capacidad metabólica y mecánica diferentes especies de mohos se utilizan para el desarrollo de biofertilizantes, biopesticidas y acondicionadores biológicos (Tellez *et al.*, 2017). También, la necesidad de afianzar el crecimiento de los sistemas productivos agrícolas ha creado alternativas permitiendo avanzar y superar las deficiencias en procesos como la nutrición vegetal a partir del uso de fertilizantes de síntesis. Así, ha surgido la agricultura orgánica como una tecnología eficaz, respetuosa del medio ambiente, económica y factible de desarrollar, incluyendo la producción y uso de fertilizantes de origen microbiológico a partir de residuos agropecuarios para nutrir plantas, controlar plagas y enfermedades de plantas, e influir positivamente en las propiedades fisicoquímicas del suelo (Rojas, 2020).

Definir la identidad de las cepas es una fase insustituible en la investigación de cualquier agente biológico y la selección de las herramientas y mecanismo de identificación constituyen la confiabilidad de la información. El uso de la técnica de la Reacción de la Cadena de la Polimerasa (PCR) como mecanismo de identificación molecular se precisa debido a la fiabilidad y practicidad de la técnica para amplificar segmentos de ADN asistido por cebadores como los Espaciadores internos de transcrito (ITS) que conforman la región ITS que se caracteriza por ser altamente repetitiva dentro del ADNr, poseer regiones conservadas, tener evolución relativamente lenta, pero a su vez, contener regiones menos conservadas, propiedades otorgadas por ITS2, 5.8 S e ITS1 respectivamente (Froeschke *et al.*, 2014); dichas características hacen de la región ITS un segmento significativamente de interés para estudios en taxonomía, incluso el espaciador interno de transcrito ha llegado a ser denominado por un grupo de micólogos como el marcador de barra para identificación de taxones y constituye uno de los mecanismos más confiables para determinar la identidad de mohos a nivel de especie (Bellemain *et al.*, 2010).

Esta investigación determinó un mecanismo de identificación molecular para doce especies de hongos distribuidos en los géneros *Trichoderma*, *Geotrichum*, *Purpureocillium*, *Laburnicola*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Bipolaris*, *Curvularia*, y *Alternaria*. Además, se realizó una correlación filogenética y revisión de antecedentes que enlistan una serie de capacidades de las diferentes especies identificadas para futuras aplicaciones en diferentes áreas de biotecnología. También, importante tanto para el banco de cepas como para el laboratorio de biotecnología molecular de la sede campos Elíseos de la Universidad Francisco de Paula Santander que permitirá avances en procesos de docencia e investigación.

MÉTODO

Esta investigación se realizó en el Centro Experimental Campos Elíseos, de la Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente de la Universidad Francisco de Paula Santander, ubicado en el municipio de Los Patios, Norte de Santander (Colombia) a una altura de 410 ms.n.m., y temperatura de 27 °C. Los aislamientos de los hongos conservados fueron caracterizados y procesados en los laboratorios Banco de Cepas y Biotecnología Molecular.

Extracción de ADN

Posterior al crecimiento en caldo Sabouraud, el micelio fue fraccionado con ayuda de una cuchilla de bisturí en trozos con diámetro no superior a 4 mm², exceptuando las cepas HA002, HE004, HF002 y HF003 a las que el micelio se centrifugó a 5000 rpm durante 5 minutos, y se procedió utilizando los protocolos propuestos por Suárez (2016) y Blanco *et al.* (2021).

Obtención de los amplicones

Para la obtención de los fragmentos amplificados por medio de la PCR se utilizaron los cebadores ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') que amplificaron la región ITS en sentido y anti-sentido respectivamente, haciendo uso del protocolo propuesto por (Suárez, 2016).

Visualización y cuantificación de los amplicones de ADN

Para la visualización de los fragmentos de ADN amplificados se realizó en gel de agarosa al 1,5 % w/v y tampón TBE 1X, y las electroforesis se efectuó con un arranque de corrida de 120 voltios durante 5 minutos y posteriormente a 100 voltios durante 2 horas. Las muestras de ácidos nucleicos fueron marcadas con el intercalante gel red y revelado en el transiluminador y fotodocumentador ChemiDoc de Bio-Rad. Para la cuantificación de ADN se utilizó el espectrofotómetro NanoDrop de Thermo scientific (Suárez, 2005).

Secuenciación de amplicones

Los productos de PCR obtenidos de cada una de las cepas se enviaron a la empresa Isla SAS, (Corea del Sur) para la posterior decodificación de las secuencias amplificadas, utilizando el secuenciador 3730xl DNA Analyzer. Los resultados fueron recibidos en formato fasta y la lectura del secuenciador fue reflejado en un archivo por medio de un cromatograma.

Identidad por homología

A partir de las secuencias obtenidas, se realizó un análisis utilizando la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, 2019) mediante la herramienta Targeted Loci Nucleotide BLAST que permitió determinar la identidad de los organismos mediante la comparación de la secuencia target (mi secuencia de interés) con la base de datos específica para secuencias curadas y remarcadas de la región espaciadora transcrita interna (ITS). Para ello se cargó la secuencia en formato fasta en la interfaz del Blast Targeted Loci Nucleotide, se seleccionó la base de datos para ITS sin ninguna otra modificación de parámetro, y se dio la orden de cargar el análisis. Como resultado se obtuvo la información de las secuencias depositadas en la base de datos con alineaciones significativas, teniendo en cuenta especialmente dos parámetros para la elección de la identidad: el E-value, cuyo valor debe estar próximo a un puntaje de 0,0 y la identidad con un porcentaje del 90 al 100 %.

Representación de la relación filogenética

Para la construcción del árbol filogenético se utilizó el software Mega 7,0; inicialmente, se realizó un alineamiento múltiple entre todas las secuencias incluida el outgroup (*E. coli*), se empleó el algoritmo de Muscle (Align by Muscle) en Mega 7,0, utilizando el método de agrupamiento UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic); una vez culminado el análisis, el archivo que se generó fue guardado en formato Mega y se indicó que no correspondía a secuencias que codifican para proteínas, a partir del archivo de alineamiento múltiple se construyó el dendrograma en la opción phylogeny; para la reconstrucción de la filogenia se empleó el método estadístico de UPGMA, y el modelo Jukes-Cantor del software mencionado, logrando la representación del árbol inferido para la relación filogenética de las secuencias obtenidas en este estudio (Lessick, 2016).

RESULTADOS

Amplicones ITS mediante PCR

Con el protocolo utilizado en la PCR y con la implementación de los cebadores ITS4 e ITS5, se obtuvieron fragmentos de tamaños que variaron entre 0,5 y 0,8 Kilobases (Kb) (Figura 1), permitiendo un testeo de los amplicones obtenidos. A partir de este resultado se define lo que representa el fundamento de selección del proceso estándar para la identificación molecular de hongos filamentosos implementado por el Laboratorio de Biotecnología Molecular de la UFPS. Además, según González-Estrada *et al.* (2020), para la identificación molecular de *Penicillium sp.* fue también realizada por PCR, empleando las regiones internas transcritas ITS1-5.8S-ITS2, utilizando el par de iniciadores de secuencia ITS4/ ITS5, y los pares de base obtenidos se compararon con las secuencias reportadas en la base de datos del banco de genes de NCBI mediante el programa BLAST; además, Bejár *et al.* (2019), amplificaron ADN por PCR en tiempo real (qPCR), para identificar *Aspergillus fumigatus*.

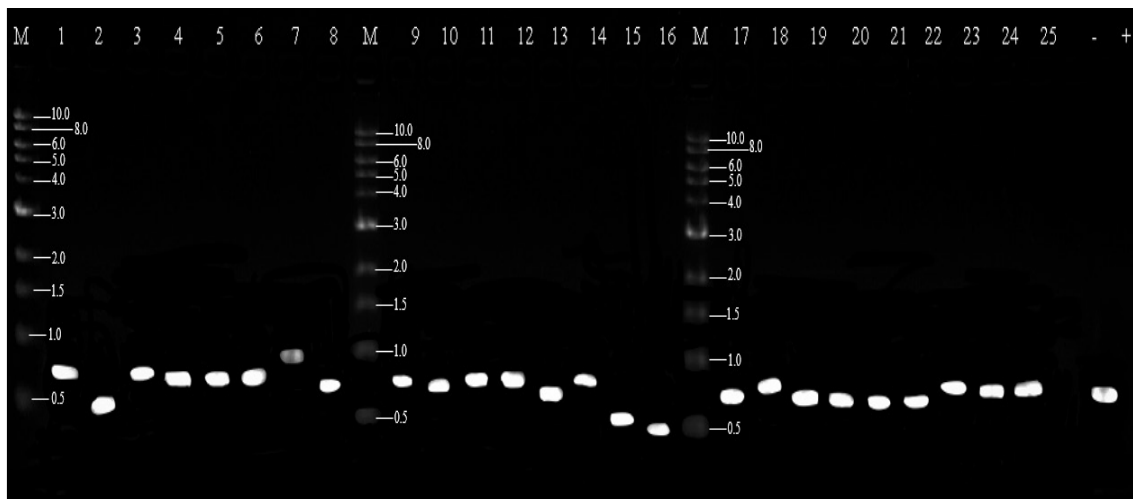


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % w/v, de los amplicones obtenidos a partir del ADN de hongos, utilizando ITS. M: Marcador molecular. 1, HA001; 2, HA002; 3, HA005; 4, HA006; 5, HA007; 6, HA008; 7, HD002; 8, HD008; 9, HD010; 10, HD011; 11, HE001; 12, HE002; 13, HE003; 14, HE004; 15, HF002; 16, HF003; 17, HF020; 18, HF021; 19, HI001; 20, HI002; 21, HI003; 22, HI004; 23, HI005; 24, JIF01; 25, JIF02; control (-); control (+), *Baeuveria bass*.

Determinación de identidad de hongos

Las 25 cepas se clasificaron en diez géneros identificados como *Trichoderma*, *Geotrichum*, *Purpureocillium*, *Luburnicola*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Baeuveria*, *Bipolaris*, *Curvularia* y *Alternaria*, distribuidos en doce (12) especies, de la siguiente manera: las cepas HA001, HA005 y HA006 corresponden a *Trichoderma yunnanense*; HA002, HE004, HF002 y HF003 son *Geotrichum silvícola*; HA007, HA008 y HE003 son *Purpureocillium lilacinum*; HD011, HI001, HI002, HI003, HI004 y HI005 corresponden a *Penicillium citrinum*; JIF01 y JIF02 son *Alternaria destruens*, la cepa HD002 es *Laburnicola hawksworthii*; HD008 es *Penicillium chrysogenum*; HD010 corresponde a *Aspergillus fumigatus*; HE001 a *Penicillium rubens*; HE002 es *Beauveria bassiana*; HF020 pertenece a *Bipolaris sivanesaniana*, y para finalizar HF021 es *Curvularia pisi* (Cuadro 1).

Cuadro 1. Identificación, valores de identidad y E-value de cada una de las secuencias analizadas utilizando la base de datos NCBI.

Cód	Especies	E value	% Ident	Cód	Especies	E value	% Ident
HA001	<i>Trichoderma yunnanense</i>	0,0	99%	HE004	<i>Geotrichum silvicola</i>	8,00E-135	94%
HA002	<i>Geotrichum silvicola</i>	5,00E-147	95%	HF002	<i>Geotrichum silvicola</i>	4,00E-144	95%
HA005	<i>Trichoderma yunnanense</i>	0,0	99%	HF003	<i>Geotrichum silvicola</i>	3,00E-143	95%
HA006	<i>Trichoderma yunnanense</i>	0,0	99%	HF020	<i>Bipolaris sivanesaniana</i>	0,0	99%
HA007	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	0,0	99%	HF021	<i>Curvularia pisi</i>	0,0	98%
HA008	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	0,0	99%	HI001	<i>Penicillium citrinum</i>	0,0	99%
HD002	<i>Laburnicola hawksworthii</i>	8,00E-13	92%	HI002	<i>Penicillium citrinum</i>	0,0	99%
HD008	<i>Penicillium chrysogenum</i>	0,0	99%	HI003	<i>Penicillium citrinum</i>	0,0	99%
HD010	<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,0	99%	HI004	<i>Penicillium citrinum</i>	0,0	99%
HD011	<i>Penicillium citrinum</i>	0,0	99%	HI005	<i>Penicillium citrinum</i>	0,0	99%
HE001	<i>Penicillium rubens</i>	0,0	97%	JIF01	<i>Alternaria destruens</i>	0,0	93%
HE002	<i>Beauveria bassiana</i>	0,0	98%	JIF02	<i>Alternaria destruens</i>	0,0	99%
HE003	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	7,00E-173	90%				

Los valores de identidad para todas las cepas superaron el 93 % y con E-value no inferior a 8×10^{-135} , según los análisis realizados a las 50 secuencias utilizando la herramienta Targeted Loci Nucleotide BLAST exceptuando la cepa HD002 cuyo resultado fue inconcluso en la secuencia ITS4, mientras que con el ITS5 el valor de identidad alcanzó el 92 % relacionando la especie *Laburnicola hawksworthii*.

Se considera la importancia de los datos moleculares para estudios de biodiversidad y el potencial de la investigación micológica en países como Brasil y Colombia. Para el caso de Brasil se determinó la diversidad de hongos basada en las secuencias ITS con un límite del 98 % (Menolli, 2020), mientras que en este trabajo fue del 97 al 99 %.

Aunque los niveles de identidad son significativos y, a pesar de que la región ITS es considerada un código de barras para la identificación taxonómica de hongos (Melloni, 2020), el uso estándar de estos cebadores durante la PCR puede generar sesgos, incurriendo al error en la secuencia, generando una predisposición en la clasificación de especies dentro de las divisiones basidiomicetos y ascomicetos, dependiendo de los iniciadores utilizados (Bellemain *et al.*, 2010). Por lo anteriormente señalado, se sugiere evaluar otros iniciadores para comparar los resultados y establecer un consenso mediante el análisis de las secuencias obtenidas por Bejár *et al.* (2019), logrando identificar diez cepas de *Aspergillus fumigatus sensu stricto* involucradas en la aspergilosis invasiva (AI) en el Perú, contribuyendo a explicar la resistencia al tratamiento y evidenciando la importancia del ambiente en el incremento de los casos.

Análisis filogenético

El filo *Ascomycota* se caracteriza por su estructura sexual en forma de saco o asca que contienen las ascosporas y por la conjugación de hifas asimilativas por medio de la anastomosis, también se constituye como un grupo de hongos numeroso con aproximadamente 114.000 especies identificadas y distribuidas en diversos ecosistemas (Wijayawardene *et al.*, 2021). Basados en la información extraída del repositorio de nomenclatura Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>) la totalidad de las cepas identificadas en el presente estudio corresponden al filo *Ascomycota*, representando los subfilos *Pezizomycotina* y *Saccharomycotina*, enclausurados en las clases *Sordariomycetes*, *Eurotiomycetes*, *Dothideomycetes* y *Saccharomycetes*, y asociados a los órdenes *Hypocreales*, *Eurotiales*, *Pleosporales* y *Saccharomycetales*. Las especies *Trichoderma yunnanense*, *Purpureocillium lilacinum* y *Beauveria bassiana* son hongos que se caracterizan por su efecto antagonista y son ampliamente utilizados para el control biológico (Hernández *et al.*, 2019; Rui *et al.*, 2020; Romero *et al.*, 2020) y pertenecen al orden de los *Hypocreales*; *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium Rubens* y *Penicillium citrinum* son especies productoras de metabolitos de uso farmacéutico y reconocidos reductores de azúcares de interés

sentados en los nodos 43 y 9 en los que se ubicaron el orden de los Hypocreales y Eurotiales respectivamente; de los Hypocreales surgió la especiación de *Trichoderma yunnanense* (nodo 37) y *Purpureocillium lilacinum* (nodo 40) y en el nodo 9 se ubicó *Aspergillus fumigatus*, el nodo 48 se ramificó en los nodos 7 y 35 ubicando las especies *Laburnicola hawksworthii* y *Geotrichum silvícola*, respectivamente. El nodo superior 46 se ramificó en los nodos 12 y 44, en el nodo 12 se encontró el taxón *Baeuveria bassiana* que pertenece al orden de los Hypocreales, mientras que en el nodo 44 se formaron dos clados que corresponden a los nodos 42 y 41, en el nodo 42 se ubicaron especies del orden de los Pleosporales pero de los géneros *Curvularia* y *Alternaria*, y en el nodo 41 se agrupó el clado que corresponde al orden de los Eurotiales que pertenecen al género *Penicillium*; a su vez, en el nodo 42 se manifestó la especiación de *Curvularia pisi* (nodo 18), y *Alternaria destruens* (nodos 24 y 25). *Curvularia*, tradicionalmente ubicada en el género *Bipolaris*, fue recientemente reclasificada en *Curvularia*, con base a análisis filogenéticos, incluyendo a *B. australiensis*, *B. hawaiiensis* y *B. spicifera* (Madrid *et al.*, 2019).

Umaña *et al.* (2019), mediante un estudio de distancias génicas utilizando intermicrosatélites (ISSR), identificó distanciamiento entre cepas de la misma especie, lo que concuerda con lo hallado en esta investigación, pero diferenciando en el método utilizando e identificando diferentes especies. Para el caso de la especie *Geotrichum silvícola*, las cepas HF002 y HF003 demuestran mayor proximidad en comparación con las cepas HA002 y HE004; para la especie *Trichoderma yunnanense* se evidenció que las cepas HA001 y HA006 tienen mayor grado de parentesco en comparación con la cepa HA005; caso similar sucedió con la especie *Purpureocillium lilacinum* que reflejó un mayor grado de semejanza entre las cepas HA007 y HA008 comparada con la cepa HE003; para el género *Penicillium* que presentó variedad de especies identificadas, se evidencia que las especies *Penicillium chrysogenum* y *Penicillium rubens* tienen mayor grado de parentesco al agruparse en el mismo nodo, mientras que *Penicillium citrum* mantuvo un mayor grado de semejanza con los de su misma especie, lo que evidencia que las variaciones genéticas entre aislamientos no dependen de las distancias geográficas (Umaña *et al.*, 2019).

Potencial biotecnológico de los hongos identificados

Se realizó una recopilación bibliográfica en la que se describieron las capacidades reportadas por otros autores a cerca de cada género y especie de los hongos que se identificaron en esta investigación, buscando el potencial de las cepas para futuras aplicaciones.

Trichoderma es importante por su capacidad de adaptación y producción de metabolitos, como enzimas, compuestos promotores de crecimiento vegetal y compuestos volátiles, entre otros, de interés biotecnológico y ambiental. Este género es utilizado como agente de biocontrol contra hongos fitopatógenos debido a sus múltiples mecanismos de acción, destacando la antibiosis, el micoparasitismo, la competencia por espacio y nutrientes, y la producción de metabolitos secundarios. Varias especies de *Trichoderma* se han utilizado en sistemas acoplados de fermentación en sustratos sólidos o cultivos sumergidos, para generar energías alternativas como etanol. Los biorreactores como sistema de fermentación optimizan las condiciones del cultivo para favorecer la generación de biomasa y metabolitos (Hernández *et al.*, 2019).

Purpureocillium lilacinum favorece el crecimiento, el contenido de clorofila y controla fitopatógenos como *Botrytis* que causan enfermedades del moho gris en una gran variedad de frutas y verduras, y la pudrición blanda y tizón foliar en la zanahoria (Rui *et al.*, 2020). *P. lilacinum* es un nematófago que tiene capacidad ovicida contra *Ancylostoma* que es un parásito gastrointestinal (Menezes *et al.*, 2017), también tiene la capacidad de ejercer biocontrol contra *Meloidogyne incognita* que es uno de los patógenos más importantes del pepino (*Cucumis sativus* L.) y ha demostrado su efectividad en el control de plagas como *Meloidogyne javanica*, *Heterodera avenae* Wollenweber, y *Radopholus similis* que afectan la plantaciones de tomate, cebada y banano respectivamente (Dahlin *et al.*, 2019), además de la capacidad de solubilizar fósforo, producir sideróforos y ácido indol-3-acético (IAA) características de un candidato para uso como biofertilizante (Moreno *et al.*, 2020).

Geotrichum silvicola es una especie de levadura artroconidial asexual que fue reportada en el año 2005 y, en la actualidad, la información relacionada con el potencial de sus aplicaciones es escasa, pero se ha encontrado que tiene estrecha relación genética con *Galactomyces geotrichum*, que es una especie con potencial en la industria de alimentos, confiriendo características organolépticas y nutricionales de sabor, aroma y ácidos grasos poliinsaturados (omega 3 y 6) (Grygier *et al.*, 2019).

Se identificaron tres especies del género *Penicillium*, *Penicillium citrium* y *Penicillium rubens*. Son destacados productores de enzimas xilanolíticas, como *Penicillium chrysogenum*, capaz de metabolizar xilasa que es una enzima que degrada polisacáridos de material celulolíticos y lignocelulósico para producir etanol y bioetanol de segunda generación, también para el tratamiento de jugos, cervezas y vinos, y para producir xilitol (Cabral *et al.*, 2018; Delgado 2021); tiene la capacidad de remediar contaminación con dihidroxibencenos, sulfonatos lineales de alquilbenceno y desperdicios de grasas que son compuestos que actúan como contaminantes de fuentes hídricas (Franco *et al.*, 2020). *Penicillium chrysogenum* es un generoso productor de penicilina y derivados con potencial terapéutico y de control biológico de hongos, bacterias y virus (Huber *et al.*, 2020), mientras que *Penicillium citrinum* ha demostrado tener capacidad lipasa, xilanasa y celulasa y de producir quitosano, pencitrin y pencitrinol (Ouephanit *et al.*, 2019; Lina *et al.*, 2019; Tejas *et al.*, 2019; Lodha *et al.*, 2020; Huber *et al.*, 2020).

La primera sustancia antibiótica descubierta fue la Penicilina, por Alexander Fleming, quien observó que el hongo del pan inhibía el crecimiento de las bacterias de *S. aureus* que había sembrado, llamando al compuesto Penicilina (*Penicillium notatum*), pero como el efecto inhibitorio era mínimo llegó a pensar que esa sustancia carecía de interés comercial. Se propuso purificar Penicilina de una antibiótica 5-15 cepa que era mejor productora, dando comienzo a la era antibiótica (Asier, 2021).

Aspergillus fumigatus es un reconocido patógeno oportunista, causante de queratitis, reacciones alérgicas en las vías respiratorias y aspergilosis pulmonar (Nayak *et al.*, 2018). También, tiene aplicaciones biotecnológicas por su capacidad de producir lovastatina que es un metabolito secundario fúngico frecuentemente utilizado con fines farmacéuticos para reducir los niveles de colesterol y eventos cardiovasculares, puede producir enzimas con características celulasas, α -xilosidasa, FPasa, xilanasa, peptidasa y amilasa que tienen aplicación en diferentes sectores productivos como la industria de producción de bioetanol (Xianchun *et al.*, 2020; Mondal *et al.*, 2020). Las celulasas son un conjunto de enzimas hidrolíticas que descomponen la celulosa, mediante la actividad sinérgica de tres diferentes componentes, las endoglucanasa, exoglucanasa y la β -glucosidasa. A lo largo de los años, estudios de celulasas han demostrado ser potencial biotecnológico en diferentes áreas, aplicada principalmente por ser biodegradables e inofensivas con el medio ambiente. Su producción es bastante estudiada en residuos agrícolas o agroindustriales. La creciente industrialización de estas áreas, ha llevado a la producción de altas cantidades de residuos que no son tratados adecuadamente, siendo importante el aislamiento de microorganismos con potenciales celulolíticos, donde *Fusarium* sp. CCLM CX presentó la mayor actividad enzimática (Rodríguez, 2019).

Además, se han realizado otros trabajos para evaluar organismos antagonistas para el control de *Sclerotinia* sp. causante de la podredumbre blanca en lechuga, como, por ejemplo: *Trichoderma* sp., *Aspergillus flavipes*, *Muscodora yucatanensis*, *Penicillium commune*, *Bacillus* sp., *Clonostachys* sp., *Paecilomyces lilacinus*, *Pseudomonas* sp. y *Coniothyrium* sp. (Zubieta *et al.*, 2021).

Baeuveria bassiana es un entomopatógeno que controla plagas de insectos como *Nilaparvata lugen*, *Lasioderma serricorne*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Plutella xylostella*, *Phenarium purpurascens*, *Kuschelorrhynchus macadamiae* y *Carya illinoensis* que atacan los cultivos de arroz, patata, repollo, maíz, macadamia y nuez (Romero *et al.*, 2020; Agboyi *et al.*, 2020; Khun *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

Se lograron identificar hongos pertenecientes al género y especies *Trichoderma yunnanense*, *Geotrichum silvicola*, *Purpureocillium lilacinum*, *Laburnicola hawksworthii*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium rubens*, *Beauveria bassiana*, *Bipolaris sivanesaniana*, *Curvularia pisi*, y *Alternaria destruens*. Se mostró una relación taxonómica entre grupos como *Trichoderma* y *Purpureocillum*, entre *Penicillium*, y *Alternaria* – *Curvularia*, indicando que son géneros filogenéticamente próximos.

La caracterización molecular y la recopilación del potencial biotecnológico para hongos filamentosos permitirá avanzar en proyectos enfocados a la bioprospección, conocer cualidades y mecanismos de estos microorganismos con miras al desarrollo de procesos y productos biotecnológicos, comprender mecanismos de patogénesis y desarrollar alternativas de control de patógenos principalmente para cultivos de interés agrícola y comercial.

AGRADECIMIENTOS

A Colciencias y al Fondo de Investigaciones de la UFPS (FINU), por la financiación de este proyecto. Al PhD. Andrés F. Barajas.

REFERENCIAS

- AGBOYI-LAKPO, K.; KETOH-GUILLAUME, K.; DOURO-KPINDOU, O.; MARTIN, THIBAUD; GLITHO, I.; TAMÓ, M. Improving the efficiency of *Beauveria bassiana* applications for sustainable management of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in West Africa. *Biological Control*, v. 144, 2020, p. 104233. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104233>
- ALBERTI, FABRIZIO; FOSTER, GARY D.; BAILEY, ANDY M. Natural products from filamentous fungi and production by heterologous expression. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 101, n. 2, 2017, p. 493–500. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8034-2>
- ASIER-DOMINGUEZ, SAN P. Caracterización de microorganismos productores de antibióticos aislados en el proyecto micromundo—UZ [Tesis de Biotecnología]. Zaragoza (España): Universidad De Zaragoza. Facultad de Ciencias, 2021, 52 p. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.012>
- BELLEMAIN, E.; CARLSEN, T.; BROCHMANN, C.; COISSAC, E.; TABERLET, P.; KAUSERUD, H. ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiology*, v. 10, n. 189, 2010, p. 1-9. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-189>
- BÉJAR, V.; VILLANUEVA, F.; LEÓN, S.; GUEVARA-GRANADOS, J; URIBE, A.; VERGARAY, G.; CUADRA, A.; SABOGAL, I. Identificación molecular de *aspergillus fumigatus* aislados de pacientes con aspergilosis invasiva. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, v. 36, n.1, 2019, p. 81-86. <https://doi:10.17843/rpmpesp.2019.361.3403>
- BLANCO-MANZANO, J.; SUAREZ-CONTRERAS, L. Caracterización molecular del fitopatógeno *Moniliophthora roreri*, utilizando marcadores issr, en Norte de Santander, Colombia. *Prospectiva*, v.19, n.1, 2021, p. 1-16. <https://doi.org/10.15665/rp.v19i1.2234>
- CENTRO NACIONAL DE INFORMACIÓN BIOTECNOLÓGICA (NCBI) [Internet]. Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE. UU.), Centro Nacional de Información Biotecnológica; 1988. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [consultado el 16 de septiembre de 2019].

- DAHLIN, P.; EDER, R.; CONSOLI, E.; KRAUSS, J.; KIEWNICK, S. Integrated control of *Meloidogyne incognita* in tomatoes using fluopyram and *Purpureocillium lilacinum* strain 251. *Crop Protection*, v. 124, 2019, p. 104874. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104874>
- DELGADO-OLIVARES, L. Producción de etanol por digestión de residuos lignocelulósicos debido a hongos del suelo agrícola de la ciudad de lima. *PURIQ*, v. 3, n.1, 2021, p. 286-302. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2011.02.01.12>
- DUFOSSÉ, L.; FOUILLAUD, M.; CARO, Y.; MAPARI, S.A.; SUTTHIWONG, N. Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 26, 2014, p. 56–61. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2013.09.007>
- ESTRADA-SALAZA, GLORIA I.; RAMÍREZ-GALEANO, MARTHA C. *Micología general*. 1ed. Manizales (Colombia): Centro Editorial Universidad Católica de Manizales, 2019, ISBN 978-958-52337-1-3, 40 p.
- FRANCO-COSTA, MAYARA; DE OLIVEIRA, A.; DE OLIVEIRA, E.; DE OLIVEIRA, J. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by *Penicillium chrysogenum*. *Bioresource Technology Reports*, v. 9, 2020, p. 100363. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100363>
- FROESCHKE, G; VON DER HEYDEN, S. A Review of Molecular Approaches for Investigating Patterns of Coevolution in Marine Host–Parasite. Relationships, v.84, 2014, p. 209–252. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800099-1.00004-1>
- GONZÁLEZ-ESTRADA, R.; VEGA-ARREGUÍN, J.; ROBLES-VILLANUEVA, B.; VELÁZQUEZ-ESTRADA, R.; RAMOS-GUERRERO, A.; GUTIÉRREZ-MARTÍNEZ, P. Evaluación in vitro de productos químicos no convencionales para el control de *Penicillium citrinum*. *Polibotanica*, v. 49, 2020, p. 161-172. <https://doi:10.18387/polibotanica.49.11>
- GRYGIER, A.; MYSZKA, K.; JUZWA, W.; BIAŁAS, W.; RUDZIŃSKA, M.; ZIŃSK, R. *Galactomyces geotrichum* mold isolated from a traditional fried cottage cheese produced omega-3 fatty acids. *Journal International of Food Microbiology*, v. 319, 2019, p. 108503. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108503>
- HERNÁNDEZ-MELCHOR, D.; FERRERA-CERRATO, R.; ALARCÓN, A.. *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of Agricultural Animal science*, v. 35, n. 1, 2019, p. 98-112. <https://doi.org/10.1016/j.kijoms.2018.03.002>
- HUBER, A.; GALGÓCZY, L.; VÁRADI, G.; HOLZKNECHT, J.; KAKAR, A.; MALANOVIC, N.; LEBER, R.; KOCH, J.; KELLER, M.; BATTÀ, G.; TÓTH, G.; MARX, F. Two small, cysteine-rich and cationic antifungal proteins from *Penicillium chrysogenum*: A comparative study of PAF and PAFB. *Biochimica et Biophysica Acta–Biomembranes*, v. 1862, n. 8, 2020, p. 183246. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2020.183246>
- INDEX FUNGORUM. Recuperado el 08 de octubre del 2021 (<http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>)
- JIN, X.; SONG, J.; MA, J.; LIU, GAO-QIANG. Thermostable β -xylosidase from *Aspergillus fumigatus*: Purification, characterization and potential application in lignocellulose bioethanol production, *Renewable Energy*, v. 155, 2020, p. 1425–1431. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.04.054>
- KHUN, K.; MASH, G.; STEVENS, M.; HUWER, R.; WILSON, B. . Response of the macadamia seed weevil *Kuschelorchynchus macadamiae* (Coleoptera: Curculionidae) to *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in laboratory bioassays. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 174, 2020, p. 107437. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107437>
- LESSICK, B. Johns Hopkins University. Quick guide on using MEGA phylogeny software.(Consultado junio 16 de 2020).
- LIMA, R.; ALVES, A.; DE PAULA, A.; DE CASTRO, H.; ANDRADE, G. Mycelium-bound lipase from *Penicillium citrinum* as biocatalyst for the hydrolysis of vegetable oils, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 22, 2019, p. 101410. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101410>

- LIU, R.; KHAN, R.; YUE, Q.; JIAO, Y.; YANG, Y.; LIN, Y.; XIE, B. Discovery of a new antifungal lipopeptaibol from *Purpureocillium lilacinum* using MALDI-TOF-IMS, Biochemical and Biophysical Researchs Communications, v. 527, n. 3, 2020, p. 689–695.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.05.021>
- LODHA, A.; PAWAR, S.; RATHOD, V. Optimised cellulase production from fungal co-culture of *Trichoderma reesei* NCIM 1186 and *Penicillium citrinum* NCIM 768 under solid state fermentation. Journal of Environmental Chemical Engineering, v. 8, n. 5, 2020, p. 103958.
<https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103958>
- MADRID, H.; CÁRCAMO, C.; TAPIA, C. *Curvularia spicifera*. Revista Chilena de Infectología, v. 36, n. 5, 2019, p. 646-647.
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v36n5/0716-1018-rci-36-05-0646.pdf>
- MANAMGODA, D.; ROSSMAN, A.; CASTEBLURY, L.; CROUS, P.; MADRID, H.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. The genus *Bipolaris*. Studies in Mycology, v. 79, 2014, p. 221–288.
<https://doi.org/10.1016/J.SIMYCO.2014.10.002>
- MANCILLA, J.; MORA, M.; MONTAÑEZ, D.; MARTÍNEZ, V.; FUENTES, R.; CARRANZA, R. Micobiota aislada de serpientes en cuarentena del centro para investigaciones y respuestas en ofidología de la Universidad de Panamá (CEREO). Tecnociencia, v. 22, n.2, 2021, p. 180-197.
<https://doi.org/10.48204/j.tecno.v23n1a10>
- MENOLLI, N.; SÁNCHEZ-GARCÍA, M. Brazilian fungal diversity represented by DNA markers generated over 20 years. Brazilian Journal of Microbiology, v. 51, 2020, p. 729–749.
<https://doi.org/10.1007/s42770-019-00206-y>
- MENEZES-HOFSTÄTTER, B.; DA SILVA-FONSECA, A.; DE SOUZA, F.; DE SOUZA-SILVEIRA, J.; MARONEZE-PERSICI, B.; PÖTTER, L.; SILVEIRA, A.; ANTONIOLLI, Z.; BRAYER-PEREIRA, D. Effect of *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma virens* fungal extracts on the hatchability of *Ancylostoma* eggs. Revista Iberoamericana de Micología, v. 34, n. 1, 2017, p. 28–31.
<https://doi.org/10.1016/J.RIAM.2016.04.004>
- MONDAL, S.; SOREN, J.; MONDAL, J.; RAKSHIT, S.; KUMAR-HALDER, S.; CHANDRA-MONDAL, K. Contemporaneous synthesis of multiple carbohydrate debranching enzymes from newly isolated *Aspergillus fumigatus* SKF-2 under solid state fermentation: A unique enzyme mixture for proficient saccharification of plant bioresources. Industria Crops and Products, v. 150, 2020, p. 112409.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112409>
- MORENO-SALAZAR, R.; SÁNCHEZ-GARCÍA, I.; CHAN-CUPUL, W.; RUIZ-SÁNCHEZ, E.; HERNÁNDEZ-ORTEGA, H.; PINEDA-LUCATERO, J.; FIGUEROA-CHÁVEZ, D. Plant growth, foliar nutritional content and fruit yield of *Capsicum chinense* biofertilized with *Purpureocillium lilacinum* under greenhouse conditions. Scientia Horticulturae, v. 261, 2020, p. 108950.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108950>
- NAYAK, A.; CROSTON, T.; LEMONS, A.; GOLDSMITH, W.; MARSHALL, N.; KASHON, M.; GERMOLEC, D.; BEEZHOLD, D.; GREEN, B. *Aspergillus fumigatus* viability drives allergic responses to inhaled conidia. Ann Allergy, Asthma Immunology, v. 121, n. 2, 2018, p. 200-210.
<https://doi.org/10.1016/J.ANAI.2018.04.008>
- OUEPHANIT, C.; BOONVITTHYA, N.; THEERACHAT, M.; BOZONNET, S.; CHULALAKSANANUKUL, W. Efficient expression and secretion of endo-1,4- β -xylanase from *Penicillium citrinum* in non-conventional yeast *Yarrowia lipolytica* directed by the native and the preproLIP2 signal peptides. Protein Expression and Purification, v. 160, 2019, p. 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.pep.2019.03.012>
- RAMAKUWELA, T.; HATTING, J.; BOCK, C.; VEGA, F.; WELLS, L.; MBATA, G.; SHAPIRO-ILAN, D. Establishment of *Beauveria bassiana* as a fungal endophyte in pecan (*Carya illinoensis*) seedlings and its virulence against pecan insect pests. Biological Control, v. 140, 2020, p. 104102.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104102>

- RODRÍGUEZ-ANDACHI, A. Actividad celulolítica de hongos filamentosos aislados del Parque Nacional de Foz de Iguazu – Brasil en sustratos agrícolas mediante la planificación experimental [Tesis en Biotecnología]. Foz de Iguazu (Brasil): Universidad Federal de la integración Latinoamericana, 2019, 54 p.
<https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2017.09.025>
- ROJAS-PRIETO, N. Evaluación de dos residuos pecuarios en la elaboración de un biofertilizante empleando fermentación anaerobia [Tesis Magister en Biotecnología]. Medellín (Colombia): Universidad Pontificia Bolivariana, Escuela de Ingenierías, 2020, 117 p.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2017.07.001>
- ROMERO-ARENAS, O.; AMARO-LEAL, L.; RIVERA, A.; PARRAGUIRRE-LEZAMA, C.; SÁNCHEZ-MORALES, P.; VILLA-RUANO, N. Formulations of *Beauveria bassiana* MABb1 and mesoporous materials for the biological control of *Sphenarium purpurascens* in maize crops from Puebla, Mexico. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, v. 23, n. 3, 2020, p. 653–659.
<https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.05.005>
- SMITH, H.; DOYLE, S.; MURPHY, R. Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. *Food Chemistry*, v. 185, 2015, p. 389–397.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.03.134>
- SUÁREZ-CONTRERAS, L. Identificación molecular de aislamientos de *Moniliophthora roreri* en huertos de cacao de Norte de Santander, Colombia. *Acta Agronómica*, v. 65, 2016, p. 51–57.
<http://dx.doi.org/10.22463/0122820X.1174>
- SUÁREZ-CONTRERAS, L. Extracción y purificación del AND de *Moniliophthora roreri* hongo que ataca el cacao, en Norte de Santander. *Respuestas*, v. 10, n. 2, 2005, p. 4–8. <https://doi.org/10.22463/0122820X.629>
- TÉLLEZ-VARGAS, J.; RODRÍGUEZ-MONROY, M.; LÓPEZ-MEYER, M.; MONTES-BELMONT, R.; SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ, G. *Trichoderma asperellum* ameliorates phytotoxic effects of copper in onion (*Allium cepa* L.). *Environmental and Experimental Botany*, v. 136, 2017, p. 85–93.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2017.01.009>
- TEJAS-NAMBOODIRI, M.; PAKSHIRAJAN, K. Sustainable and green approach of chitosan production from *Penicillium citrinum* biomass using industrial wastewater as a cheap substrate, *Journal of Environmental Management*, v. 240, 2019, p. 431–440.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.085>
- UMAÑA-CASTRO, J.; OROZCO-CAYASSO, S.; UMAÑA-CASTRO, R.; MOLINA-BRAVO, R. Identificación molecular y características fisiológica de aislamientos de *Trichoderma* para el biocontrol de dos patógenos en la piña. *Revista de Ciencias Ambientales, Tropical Journal of Environmental Sciences*, v. 53, n. 1, 2019, p.125–142.
<http://doi.org/10.15359/rca.53-1.7>
- ZUBIETA-CORONADO, D.; ECHEVERRY-PRIETO, L.; ZAFRA-MEJÍA, C. Antagonismo in vitro por consorcios de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. contra el fitopatógeno *Sclerotinia* sp. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, v. 19, n. 1, 2021, p. 16–31.
<https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n1.2021.1293>
- WAKAI, S.; ARAZOE, T.; OGINO, C.; KONDO, A. Future insights in fungal metabolic engineering. *Bioresource Technology*, v. 245, 2017, p. 1314–1326.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.095>
- WANG, H.; XU, Z.; GAO, L. A fungal phylogeny based on 82 complete genomes using the composition vector method. *BMC Evolutionary Biology*, v. 9, n. 195, 2009.
<https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-195>
- WIJAYAWARDENE, N.; HYDE, K.; DAI, D. Outline of Ascomycota, *Encyclopedia of Mycology*, 2021, p. 246–254.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819990-9.00064-0>
- ZHAI, Y.; LI, X.; WANG, T.; WANG, B.; LI, C.; ZENG, G. A review on airborne microorganisms in particulate matters: Composition, characteristics and influence factors. *Environment International*, v. 113, 2018, p. 74–90.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2018.01.007>