

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

INFORME DE TÉRMINO DEL SERVICIO SOCIAL
POR ACTIVIDADES VINCULADAS CON LA PROFESIÓN

Título
**Hongos filamentosos y levaduriformes, conservación,
identificación morfológica, fisiológica y molecular.**

QUE PRESENTA EL ALUMNO

Nombre
Mario Antonio Hernández Martínez

Matrícula
2202036693

ASESORES

Asesora externa
Dra. Carolina Angélica Brunner Mendoza
Número de cédula: 11292880
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

Asesor Interno
M en EA. Ezel Jacome Galindo Pérez
No. Eco. 44093
Dpto. El Hombre y su Ambiente
Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

ÍNDICE

1.- Resumen	3
2.- Introducción	4
3.- Objetivos	6
4.- Metodología aplicada	7
4.1 Aislados	7
4.2 Fase de identificación fenotípica:	7
4.2.1 Macromorfología	7
4.2.2 Micromorfología	8
4.3 Fase de evaluación fisiológica:	9
4.3.1 Temperatura	9
4.3.2 Medios	9
4.4 Fase de identificación molecular:	10
4.5 Fase de conservación:	12
4.6 Fase de integración y aplicación de resultados:	13
5.- Resultados y conclusiones	13
5.1 Aislados	13
5.2 Fase de identificación fenotípica:	13
5.2.1 Macromorfología	13
5.2.2 Micromorfología	19
5.3 Fase de evaluación fisiológica:	24
5.3.1 Temperatura	24
5.3.2 Medios	26
5.4 Fase de identificación molecular:	27
5.6 Fase de integración y aplicación de resultados:	30
5.- Conclusiones	31
6.- Metas alcanzadas	32
7.- Bibliografía	32
ANEXO 1	36
Medios	36
ANEXO 2	38
<i>Alternaria alternata</i>	38
<i>Akanthomyces lecanii</i>	39
<i>Aspergillus niger</i>	40
<i>Candida tropicalis</i>	41
<i>Epicoccum nigrum</i>	42
<i>Isaria fumosorosea</i>	43
<i>Metarhizium robertsii</i>	44
<i>Penicillium chrysogenum</i>	45
<i>Trichosporon asahii</i>	46
8.- Visto Bueno de Asesores	47

1.- Resumen

Los hongos constituyen un grupo mega diverso de microorganismos eucariotas con una amplia importancia ecológica, médica e industrial, debido a su participación en procesos de descomposición, reciclaje de nutrientes o la producción de metabolitos de interés biotecnológico. Estos se clasifican en función de su estructura y crecimiento. Por lo que, resulta indispensable contar con metodologías confiables para su aislamiento, conservación e identificación, que permitan asegurar la viabilidad de las cepas y la correcta asignación taxonómica, así como su posterior aprovechamiento en estudios científicos y aplicaciones tecnológicas. El presente trabajo tuvo como objetivo la caracterización morfológica, fisiológica y molecular de nueve aislados fúngicos provenientes de diferentes fuentes, incluyendo bebidas fermentadas, muestras ambientales, suelos y pacientes con diagnóstico clínico.

La identificación morfológica se realizó mediante la evaluación macroscópica de colonias cultivadas en Agar Papa Dextrosa y Agar Sabouraud, considerando características como color, textura, borde, topografía, pigmentación y velocidad de crecimiento. De manera complementaria, se llevó a cabo el análisis microscópico para la observación de estructuras diagnósticas tales como conidios, fiálides y conidióforos. La caracterización fisiológica incluyó la captura del patrón de crecimiento y cobertura colonial bajo condiciones controladas de incubación. Para la identificación molecular, se extrajo ADN genómico de los aislados y se amplificó la región ITS del ADN ribosomal mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los productos de amplificación obtenidos presentaron tamaños comprendidos entre 500 y 600 pares de bases, concordantes con los rangos reportados para los géneros y especies analizados. Asimismo, se implementaron diferentes métodos de conservación a corto y largo plazo, incluyendo mantenimiento en medio sólido, agua destilada estéril y agua glicerizada, con el fin de preservar la viabilidad y estabilidad de las cepas.

Los resultados obtenidos demostraron que la integración de enfoques morfológicos, fisiológicos y moleculares permiten una identificación confiable de los aislados fúngicos y una adecuada conservación de los mismos. Este trabajo proporciona bases sólidas para el establecimiento de colecciones fúngicas de referencia y contribuye al fortalecimiento de estudios posteriores en áreas como micología aplicada, biotecnología, control biológico y salud.

Palabras clave: Hongos, caracterización morfológica, identificación molecular, región ITS, conservación de cepas.

Summary

Fungi constitute a megadiverse group of eukaryotic microorganisms with broad ecological, medical, and industrial importance due to their role in decomposition processes, nutrient recycling, and the production of metabolites of biotechnological interest. They are classified according to their structure and growth. Therefore, reliable methodologies for their isolation, preservation, and identification are essential to ensure strain viability and correct taxonomic assignment, as well as their subsequent use in scientific studies and technological applications. The present work aimed to characterize the morphology, physiology and molecular structure of nine fungal isolates from different sources, including fermented beverages, environmental samples, soils and patients with clinical diagnosis.

Morphological identification was performed by macroscopic evaluation of colonies grown on Potato Dextrose Agar and Sabouraud Agar, considering characteristics such as color, texture, border, topography, pigmentation, and growth rate. Microscopic analysis was also performed to observe diagnostic structures such as conidia, phialides, and conidiophores. Physiological characterization included capturing the growth pattern and colonial coverage under controlled incubation conditions. For molecular identification, genomic DNA was extracted from the isolates, and the ITS region of ribosomal DNA was amplified by polymerase chain reaction (PCR). The resulting amplification products ranged in size from 500 to 600 base pairs, consistent with the ranges reported for the genera and species analyzed. In addition, different short- and long-term preservation methods were implemented, including maintenance in solid medium, sterile distilled water, and glycerinated water, to preserve the viability and stability of the strains.

The results obtained demonstrated that integrating morphological, physiological, and molecular approaches allows for the reliable identification of fungal isolates and their proper preservation. This work provides a solid foundation for establishing reference fungal collections and contributes to strengthening future studies in areas such as applied mycology, biotechnology, biological control, and health.

Keywords: Fungi, morphological characterization, molecular identification, ITS region, strain preservation.

2.- Introducción

Los hongos constituyen un grupo mega diverso de organismos eucariotas pertenecientes al reino *Fungi*, caracterizados por poseer una pared celular compuesta de quitina, reproducirse por esporas y nutrirse por absorción (Alexopoulos, *et al.*, 1996). Estos desempeñan un papel ecológico fundamental como descomponedores, simbioses y

patógenos, y abarcan una amplia gama de formas, desde los mohos hasta las levaduras. En función de su estructura y modo de crecimiento, se clasifican principalmente en hongos filamentosos y levaduriformes. Los primeros desarrollan grandes grupos de hifas que conforman un micelio visible, con reproducción mediante conidios o esporas asexuales, mediante la fusión de hifas compatibles y la germinación de esporas; los segundos son unicelulares que se multiplican por gemación o fisión y, en algunos casos, pueden formar pseudohifas o transicionar a formas dimórficas como lo son pseudo hifas, hifas verdaderas como lo es en el caso del género *Candida* o artroconidios en el caso del género *Trichosporon* (Deacon, 2006; Medvedeff, *et al.* 2008).

En el ámbito de la biología molecular, la conservación de hongos es un proceso esencial para mantener la viabilidad, estabilidad genética y características fenotípicas de las cepas a lo largo del tiempo. Su correcta preservación garantiza la reproducibilidad experimental y la integridad de los estudios genéticos, fisiológicos y taxonómicos (Smith y Ryan, 2012). Históricamente, la conservación de hongos ha evolucionado desde los primeros cultivos en medios simples en el siglo XIX hasta el desarrollo de métodos de liofilización y criopreservación durante el siglo XX, siendo los métodos más empleados la refrigeración en medios sólidos, la conservación en agua destilada (método de Castellani), la liofilización y la criopreservación en glicerol o DMSO a bajas temperaturas. Siendo que cada técnica ofrece ventajas específicas según la duración deseada, desde el mantenimiento temporal hasta la conservación a largo plazo en bancos de cepas. (Humber, 1997; Ryan y Smith, 2014). Como lo es el caso de *Aspergillus niger* que se mantiene eficazmente mediante el uso de glicerol a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o DMSO a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Merheb *et al.*, 2022). *Alternaria alternata* y *Akanthomyces lecanii* por su parte conservan alta viabilidad gel sílice o granos de cereal, además del uso de glicerol para esta última (Tariq, 2015; Bermeo y Castro, 2021). *Candida tropicalis* se preserva en agua destilada y aceite mineral (Panizo *et al.*, 2005), mientras que *Epicoccum nigrum*, *Penicillium chrysogenum* y *Trichosporon asahii* pueden almacenarse en APD o SDA a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ para corto plazo, en agua destilada para mediano, y por liofilización para largo plazo (Capriles, 1989).

Por otra parte, la identificación de hongos ha seguido una trayectoria similar de perfeccionamiento. Inicialmente basada en criterios morfológicos como el color, textura, tipo de conidios y estructuras reproductivas observables en microscopía, complementada en el siglo XX con estudios fisiológicos que evaluaron el metabolismo, la tolerancia ambiental y la actividad enzimática (Kirk, *et al.*, 2008). Con la incorporación de la biología molecular en las décadas recientes, se introdujeron técnicas de amplificación y secuenciación de ADN, empleando regiones como el ITS (*Internal Transcribed Spacer*), el gen del factor de elongación (TEF1- α) y otros marcadores ribosomales (White, *et al.*, 1990; O'Donnell, 2015).

Estos métodos han permitido establecer relaciones filogenéticas precisas y redefinir numerosas especies fúngicas.

En conjunto, el estudio, conservación e identificación de hongos representan pilares fundamentales para la investigación biológica y biotecnológica. Su correcta caracterización no solo contribuye al conocimiento de la diversidad microbiana, sino que también posibilita su aplicación en campos como la medicina, la agricultura, la industria alimentaria y la bioremediación (Hulvey, *et al.*, 2019). Por lo que, comprender sus métodos de preservación y su identificación mediante enfoques morfológicos, fisiológicos y moleculares garantiza la continuidad y fiabilidad de las investigaciones micológicas contemporáneas.

3.- Objetivos

Objetivo General

Realizar la conservación, identificación morfológica, fisiológica y molecular de hongos filamentosos y levaduriformes, a fin de ampliar el conocimiento sobre su diversidad y potenciar sus aplicaciones en biotecnología y salud pública.

Objetivos Específicos

1. Realizar la identificación morfológica mediante técnicas microscópicas y análisis de características fenotípicas (morfología de colonias y morfología celular).
2. Determinar el perfil fisiológico de las cepas mediante ensayos de crecimiento y análisis de la respuesta a variables ambientales (temperatura, nutrientes).
3. Implementar técnicas moleculares como: extracción de ADN, PCR, secuenciación de marcadores genéticos como ITS para una identificación preliminar de los aislados estudiados.
4. Conservar muestras representativas de hongos filamentosos y levaduriformes provenientes de diversas fuentes, utilizando técnicas como la preservación.
5. Integrar la información morfológica, fisiológica y molecular de los aislados estudiados y realizar una búsqueda bibliográfica sobre el potencial biotecnológico y en salud pública de las especies identificadas.

4.- Metodología aplicada

4.1 Aislados

Se utilizaron nueve aislados fúngicos obtenidos de diversas fuentes, entre ellas: pozol, una bebida fermentada (n = 2), muestras ambientales (n = 4), suelos (n = 1) y de pacientes

con diagnóstico clínico de esporotricosis (n = 2). Estos aislados pertenecen a la colección de hongos del Laboratorio de Micología Básica, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, y en la Colección Federal Mundial de Cultivos (WFCC) como BMFM-UNAM 834. Para su uso experimental, los aislados fueron previamente aislados mediante cultivo *in vitro*.

4.2 Fase de identificación fenotípica:

4.2.1 Macromorfología

Cultivo de monospóricos:

Se realizó la siembra de los aislados en tubos de ensayo con medio de APD (Agar, Papa y Dextrosa) (método de preparación ubicado en Anexo 1) y aquellos con crecimiento levaduriforme fueron incubados a 37 °C por 5 días, mientras que los de crecimiento filamentoso fueron incubados a 28 °C por 5 días. Una vez concluida la incubación, se realizó el ajuste de una suspensión inicial de 1×10^6 conidios/1 mL en Tween 80 al 0.5 % de cada aislado con la cámara de Neubauer, hasta obtener una suspensión de suspensión de 500 conidios/1 mL. La técnica empleada en la elaboración de la suspensiones consistió en añadir individualmente 2 mL de 1 mL en Tween 80 al 0.5 % al tubo de cultivo, y con ayuda de un ayuda de un asa bacteriológica se suspendió tanto el micelio reproductivo como la mayor cantidad de micelio vegetativo posible. Conforme al cálculo efectuado, esté se realizó acorde a la siguiente fórmula:

$$n \times 10^4 \times 10^n$$

n : Conidios observados en la cámara de Neubauer
10⁴ : Factor de la cámara de Neubauer
10ⁿ : Factor de dilución

Posteriormente, se inocularon 50 µL de la suspensión final en cajas Petri con medio APD, mediante siembra por extensión, y se incubaron durante 48 h a 37 °C para los aislados levaduriformes y a 28 °C para los aislados filamentosos.

Tras el periodo de incubación se seleccionó a las colonias resultantes cuidadosamente en cuadrantes de 5 mm con un bisturí de hoja recta en cajas Petri con medio de APD, incubando nuevamente a 37°C en caso de las levaduras y 28°C los filamentosos. Elaborando duplicado de cada aislado y revisando constantemente para constatar la aparición de una sola colonia a partir del segmento cortado durante 7 días.

Posteriormente, se elaboró una caracterización de la macromorfología de cada especie utilizando como guía el Repertorio de Micología de The University of Adelade ubicado en la página web de la misma institución (The University of Adelade, 2025) y lo mencionado por Gómez y Félix (2022) en el Atlas de Hongos Filamentosos y Levaduriformes, teniendo en cuenta los siguientes criterios: la simetría del cultivo, color del micelio, textura (algodonosa, aterciopelada, pulverulenta o gelatinosa), aspecto (plano, rugoso, plegado, elevado, crateriforme o convexo), bordes (regulares, lobulados o difusos), producción de pigmentos difusibles en el medio y la producción de exudados o gotas sobre la superficie. Sumado a ello, se tomó el área promedio de cada muestra de acuerdo a las siguientes fórmulas. Además, se realizó el registro fotográfico de cada uno de los aislados con una cámara FNE-NX9.

Para muestras circulares:

$$\text{Área} = \pi \times r^2$$

Para muestras ovaladas:

$$A = \pi * a * b$$

A : área

π : 3.1416

a : radio de la longitud más extensa

b : radio de la longitud menos extensa

4.2.2 Micromorfología

Cultivo y análisis microscópico:

Los aislados se sembraron en cajas Petri con medio APD y se incubaron a 28 °C durante cinco días. En el caso de los aislados ambientales, fueron sembrados tanto en cajas Petri como tubos de ensayo, de igual manera a 28 °C durante cinco días. Posteriormente se observaron las características morfológicas coloniales de cada cultivo utilizando como guía el Repertorio de Micología de The University of Adelade ubicado en la página web de la misma institución (The University of Adelade, 2025), teniendo en cuenta las estructuras morfológicas más informativas de cada género como: conidios (pigmentados en *Alternaria* y *Epiccocum*; blastoconidios en *Candida* y artroconidios en *Trichosporon*) (Ellis, 1971; Sugita, et al., 2002; Kurtzman, et al., 2011; Woudenberg, et al., 2015), fiálides (*Metarhizium*, *Isaria* y *Akanthomyces*) (Bischoff, et al., 2009; Kepler, et al., 2017). y conidióforos (*Aspergillus* y *Penicillium*) (Pitt y Hocking, 2009; Samson, et al., 2014). La observación se realizó mediante

examinaciones directas de cada muestra en un microscopio binocular Olympus CH2, bajo una tinción con azul de algodón (Azul de Lactofenol, HYCEL, México). Se realizó el registro fotográfico de cada uno de los aislados con una cámara FNE-NX9.

4.3 Fase de evaluación fisiológica:

4.3.1 Temperatura

Se llevó a cabo la inoculación de las muestras en cajas Petri con medio de APD y Agar Sabouraud (SDA) (método de preparación ubicado en Anexo 1) a 28 °C y 37 °C. La técnica de inoculación empleada consistió en colocar 50 µL de la suspensión 500 conidios / 1 mL previamente elaborada para cada aislado, sobre un confeti esteril de 4mm ubicado al centro de la caja de Petri, con una réplica por temperatura para cada muestra. Posteriormente, tras 8 días de incubación, se capturó la cobertura total (área) de cada aislado en ambos medios, ésto tomando las medidas al reverso de la caja con ayuda de una regla y un marcador, y elaborando los cálculos nuevamente acorde a las fórmulas para muestras circulares y ovaladas, previamente mencionadas. Sumado a ello, se realizó el cálculo de la desviación, varianza y desviación estándar, apoyado en el programa Excel de la paquetería Office.

Sumado a esto, se elaboró un conteo de conidios mediante la elaboración de una suspensión 500 conidios / 1 mL de cada aislado empleado nuevamente la técnica antes mencionada en la elaboración de suspensiones para monospóricos. Se colocó 50 µL en una cámara de Neubauer y se tomaron las dimensiones conidiales como el largo (L) y ancho (A) de 20 conidios. El ajuste de las dimensiones se elaboró acorde al Equivalente de la Reglilla del Microscopio, donde una división en la rejilla equivale a 1.031 µm al emplear el objetivo 100x (del Río y Sogorb, 2014).

4.3.2 Medios

Consecutivamente, se tomó en cuenta los datos de cobertura total de los aislados previamente obtenidos en la evaluación de temperatura, y adicionalmente se catalogó el tipo de micelio obtenido, como lo es: vegetativo o reproductivo. Considerando una cobertura total del 100% de las cajas Petri empleadas (cuya área individual fue 56.745 cm²). Siendo que para *A. niger* se esperaba una cobertura cercana al 100 % de acuerdo con Samson y colaboradores (2014) en medio APD; en el caso de *A. alternata* se estimaba una cobertura total del 60-80% del medio APD como planteó Woudenberg y asociados (2015); acorde a *A. lecanii*, Kepler y asociados estimaron una cobertura media del 40-60% tanto en APD como SDA; conforme a *C. tropicales*, Kurtzman y asociados (2011) se estimó una ocupación

superficial del 30-50% en medio APD y SDA, donde no se mide el crecimiento radial sino la expansión colonial; tanto para *E. nigrum* y *I. fumosorosea*, de acuerdo con Ellis (1971), y Kepler y colaboradores (2017) se anticipaba una cobertura del 50-70% en medio APD y SDA; acorde a *M. robertsii* y *P. chrysogenum* la estimación esperada era del 70-90% de cobertura del medio APD como establecen Bischoff y asociados (2009), y Houbraken y colaboradores (2011); y finalmente la ocupación superficial estimada para *T. asahii* de acuerdo con Sugita y asociados (2002) era alrededor del 40-60% en medio SDA.

De igual manera, se empleó como apoyo el programa Excel de la paquetería Office y se realizó el registro fotográfico de cada uno de los aislados con una cámara FNE-NX9 .

4.4 Fase de identificación molecular:

Extracción y purificación de ADN:

Después de haber identificado, tanto micro como macroscópicamente cada aislado, éstos fueron cultivados individualmente en 250 mL de medio líquido de YPG (Yeast Peptone Glucose por sus siglas en inglés, método de preparación ubicado en Anexo 1) e incubados a 28°C por 4 días en una incubadora de agitación a 20 rpm. Posteriormente, el micelio obtenido fue filtrado, lavado con agua estéril y secado con papel filtro en una campana de flujo laminar bajo condiciones estériles, y conservado a -3 °C hasta su utilización. Para el proceso de extracción de ADN se utilizaron dos protocolos distintos para cada tipo de muestra levaduriforme o filamentosa.

Para el proceso de extracción de las muestras filamentosas, se utilizó el kit PROMEGA Genomic DNA Purification Kit REF A1120 (Promega Corporation, Madison, WI, USA) de la siguiente manera: se depositaron 100 mg de masa micelial en microtubos de 1.5 mL con 0.2 g de perlas de vidrio de 425-600 µm estériles con 600 µL de la Solución de Lisis de Núcleo. Los tubos se agitaron en un Vortex seguido de 3 ciclos de 30 s a 4 m/s cada uno, en un equipo FastPrep (Thermo Savant Instruments, Holbrook, NY, EUA). Posterior a ello, se incubó a 65 °C por 15 min, se añadió 3 µL de RNAsa y se incubó nuevamente a 37 °C durante 15 min. Luego se colocó la mezcla en un contenedor frío por 5 min. Después se agregaron 200 µL de la Solución de Precipitación de Proteína mezclando en el Vortex (Daigger Vortex Genie 2) por 20 s, y se centrifugó durante 3 min a 14000 rpm (Centrífuga de Laboratorio Hettich Zentrifugen MIKRO 22R, Alemania). Se retiró cuidadosamente el sobrenadante para evitar contaminar la solución de ADN con la proteína precipitada a un tubo Eppendorf de 1.5 mL y se realizaron dos lavados en el que se decantó el líquido resultante, el primero fue con 600 µL de Isopropanol y se centrifugó nuevamente a 14000 rpm durante 1 min, y el segundo con 600 µL de etanol, centrifugando a 14000 rpm durante 1 min. Luego se removió el líquido y se

colocó boca abajo sobre un papel absorbente hasta que todo el etanol se evaporó. Por último, se añadieron 100 µL de DNA Solución Rehidratante, y se incubó a 65 °C por 1 hr.

En el caso de la extracción de ADN en los aislados levaduriformes fue acorde al kit PROMEGA, cuyo el procedimiento fue el siguiente: se depositó 1 mL del YPG en tubos Eppendorf de 1.5 mL y se centrifugaron a 14000 rpm durante 2 min. Luego se removió minuciosamente sobrenadante y se añadió 293 µL de 50mM EDTA. Seguido a ello, se añadió 7.5 µL de Liticasa (75 unidades/µL), se mezcló, se incubó a 37 °C por 30 min y se centrifugó nuevamente a 14000 rpm durante 2 min. El sobrenadante obtenido se extrajo y se agregó en su lugar 300 µL de la Solución de Lisis de Núcleo y 100 µL de la Solución de Precipitación de Proteínas, luego se agitó por alrededor de 20 s y se colocó sobre hielo durante 5 min. Después se centrifugó a 14000 rpm durante 3 min y dio pasó a una serie de lavados en el que se decantó el líquido resultante, inicialmente se removió cuidadosamente el sobrenadante a un tubo Eppendorf de 1.5 mL que contenía previamente 300 µL de isopropanol y se centrifugó a 14000 rpm durante 2 min, y el segundo con 300 µL de etanol al 70% y se centrifugó a 14000 rpm durante 2 min. Posteriormente se añadieron 50 µL de DNA Solución Rehidratante y 1.5 µL de RNAsa y agitó en un Vortex por 20 s, se centrifugó a 14000 rpm durante 1 min y colectó el sobrenadante. Finalmente, se rehidrató el ADN con 50 µL de DNA Solución Rehidratante e incubó a 65 °C por 1 hr.

Después se cuantificó con el nano espectrofotómetro (NS1000 Accuris Smart Drop, EE. UU.), empleando 3 µL de DNA Solución Rehidratante como blanco y seguidamente 2 µL de cada muestra para su posterior lectura, descartando muestras con menos 30 ng/u y un valor de absorción menor a 1.80 y mayor a 2.

Amplificación:

Se realizó una PCR para la amplificación de la región ITS (ITS1/ITS4) en un termociclador (T100 Thermal Cycler, BioRad, EE. UU.). Las amplificaciones se llevaron a cabo en 25 µL con buffer 1X, 2.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de cada oligonucleótido, 200 µM de dNTPs (Applied Biosystems, USA), 10-50 ng de DNA y 1 U Taq polimerasa (Thermo Scientific, Thermo Fisher Scientific Inc., Vilnius, Lithuania, EE UU.). El testigo negativo contenía todo lo anterior excepto el DNA genómico. El programa de amplificación utilizado se muestra en la siguiente tabla (tabla 1) (Navarro-Barranco, *et al.*, 2019).

Tabla 1. Programa de amplificación por PCR de ITS

1x	Ciclo 1	95°C x 5 min
		95°C x 1 min
30x	Ciclo 2	58°C x 30 s
		68°C x 30 s
1x	Ciclo 3	68°C x 2 min
		4°C x 5 min

Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % en amortiguador TBE 0.5 X (Tris-Base a 45 mM, ácido bórico a 45 mM, EDTA a 1 mM) (Brunner, 2012) en una fuente de poder a 90 V durante 45 min (PowerPac Basic, BioRad, EE. UU.). Posteriormente, el gel fue expuesto en un sistema de fotodocumentación (UVIDOC HD6, Uvitec Cambridge, EE. UU.). Se realizó el registro fotográfico de cada uno de los aislados con una cámara FNE-NX9.

4.5 Fase de conservación:

Conservación:

Se aplicaron técnicas de conservación a corto y largo plazo para garantizar la viabilidad y estabilidad de las cepas como lo es conservación en agua glicerinada, agua destilada y en medio inclinado con medio de APD (Ellis, 1979; Humber, 1997; Danner, *et al.*, 2023). Para ello se prepararon 2 tubos de tapa rosca (de 2 mL) con 1 mL de agua glicerinada al 10%, 2 tubos de tapón (de 10 mL) con 5 mL agua destilada y 2 tubos tapa rosca (de 5 mL) de medio inclinado con medio de APD, todo esto para cada aislado.

Se retomó la suspensión 500 conidios / 1 mL de cada aislado empleada en los ensayos de crecimiento, inoculando 100 µL una caja Petri con medio de APD e incubando durante 14 días a 37 °C en caso de las levaduras y 28 °C los demás aislados. Posteriormente a la incubación, se cortaron 10 segmentos de micelio de cada aislado de 5 mm con el extremo amplió de una punta de pipeta de 1.5 mL y se distribuyeron de la siguiente manera: 4 segmentos en los tubos con agua destilada y 6 segmentos en los tubos con agua glicerinada, acorde a la conservación en medio inclinado, la inoculación se realizó por barrido.

4.6 Fase de integración y aplicación de resultados:

Integración

de

datos:

Se elaboró una descripción morfológica, fisiológica y molecular para obtener una clasificación comprensiva de las cepas.

Validación

y

aplicación:

Se documentaron las aplicaciones biotecnológicas, potencial biotecnológico y en salud pública de las especies identificadas obtenidos mediante búsqueda bibliográfica para obtener una clasificación más amplia.

5.- Resultados y conclusiones

5.1 Aislados

Se obtuvieron los siguientes monospóricos de las especies expuestas en la siguiente tabla (Tabla 2).

Tabla 2. Origen de aislados.

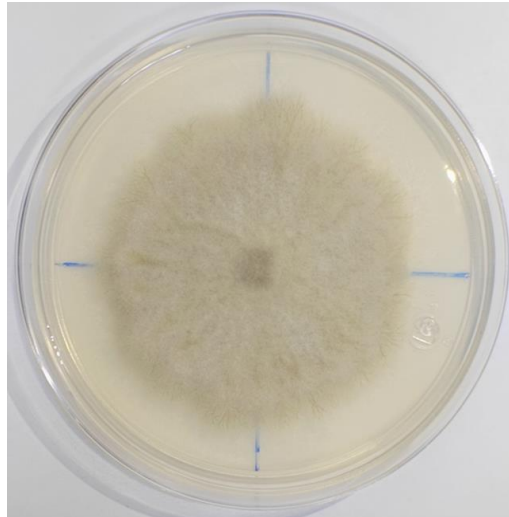
ID	Especie	Fuente (ambiental, suelo, clínica, pozol)	Donado por
46	<i>Alternaria alternata</i>	Ambiental	Hospital de nutrición Salvador Zubiran, CDMX, México
EH 458	<i>Akanthomyces lecanii</i>	Clínica	Genia Carrión, de colección Herbario: XAL con el ID: IE-397
27	<i>Apergillus niger</i>	Ambiental	Hospital de nutrición Salvador Zubiran, CDMX, México
/	<i>Candida tropicalis</i>	Pozol	Mra. Teresa Martínez Oropeza
16	<i>Epicoccum nigrum</i>	Ambiental	Hospital de nutrición Salvador Zubiran, CDMX, México
EH 253 (506)	<i>Isaria fumosorosea</i>	Suelo	Alejandra Taxis, de Laboratorio de Micología Básica de la Facultad de Medicina de la UNAM
Mr 795	<i>Metarhizium robertsii</i>	Clínica	Galleria mellonella, Morelos
25	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Ambiental	Hospital de nutrición Salvador Zubiran, CDMX, México
/	<i>Tricosporon asahii</i>	Pozol	Mra. Teresa Martínez Oropeza

5.2 Fase de identificación fenotípica:

5.2.1 Macromorfología

Alternaria alternata

El aislado 46 presento características típicas de la especie, tales como la asimetría y la presencia cuyas colonias de crecimiento rápido (con un área promedio de 32.93 cm²), adoptarán un color negro oliváceo a grisáceo, de textura aterciopelada recubierta por un velo veloso blanco, cuyos bordes se fueron difusos. No produjo pigmentos difusibles en medio ni exudados o gotas sobre la superficie, como se observa en la siguiente figura (Figura 1).



APD

Alternaria alternata

Figura 1. Monospórico de aislado *Alternaria alternata*.

Akanthomyces lecanii

Acorde al aislado EH 458, se evidenció un conjunto de características propias de la especie, entre ellas, micelio ligeramente asimétrico de un color blanco con textura algodónosa, de aspecto ligeramente convexo con bordes definidos ligeramente lobulados. De un crecimiento lento con un área promedio de 3.5 cm², no produjo pigmentos difusibles en el medio ni exudados o gotas sobre la superficie, como se observa a continuación (Figura 2).



APD

Akanthomyces lecanii

Figura 2. Monospórico de aislado *Akanthomyces lecanii*.

Aspergillus niger

Conforme al aislado 27, se observaron rasgos morfológicos compatibles con la descripción de la especie, incluyendo una simetría en el cultivo, además de un color marrón oscuro a negro, de textura polvosa-granulosa. De aspecto elevado con bordes difusos, y un

crecimiento acelerado de un área promedio de 50.3 cm². No produjo pigmentos difusibles en medio ni exudados o gotas sobre la superficie tal como se muestra en la Figura 3.



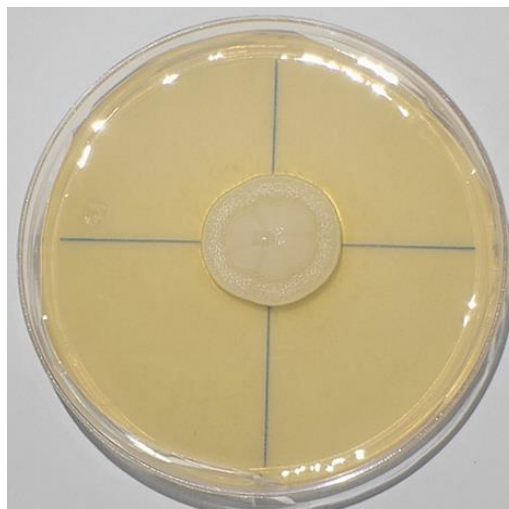
APD

Aspergillus niger

Figura 3. Monospórico de aislado *Aspergillus niger*.

Candida tropicalis

Concorde al aislado *C. tropicalis*, un hongo levaduriforme considerado dimórfico por la Asociación Mexicana de Micología Médica. Presentó una asimetría en el cultivo, cuyas colonias son generalmente lisas, gelatinosas, de un color blanco a crema con bordes ligeramente lobulados. Presentó un crecimiento lento con un área promedio de 5.3 cm² (en 28°C), no produjo pigmentos difusibles en medio ni exudados o gotas sobre la superficie, según se aprecia en la Figura 4.



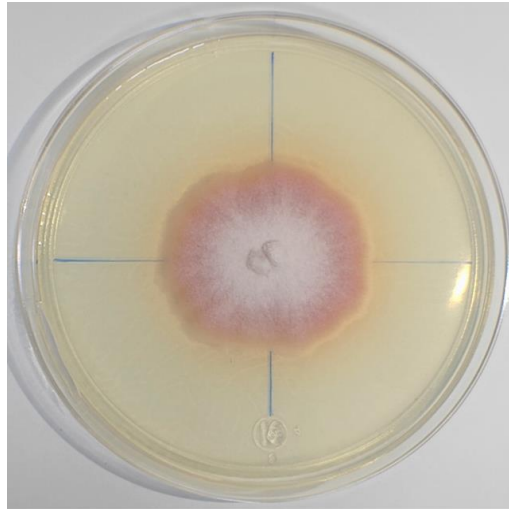
APD

Candida tropicalis

Figura 4. Monospórico de aislado *Candida tropicalis*.

Epicoccum nigrum

El aislado 16 mostró características típicas descritas para esta especie, siendo de crecimiento rápido con un área promedio de 12.76 cm². Siendo ligeramente asimétrico con bordes lobulados, de una textura aterciopelada, vellosa, y un color marrón rojizo que se difumina a un color blanco en el centro. Produjo un tono amarillento en el medio, sin embargo, no exudados o gotas sobre la superficie, como se observa en la Figura 5.



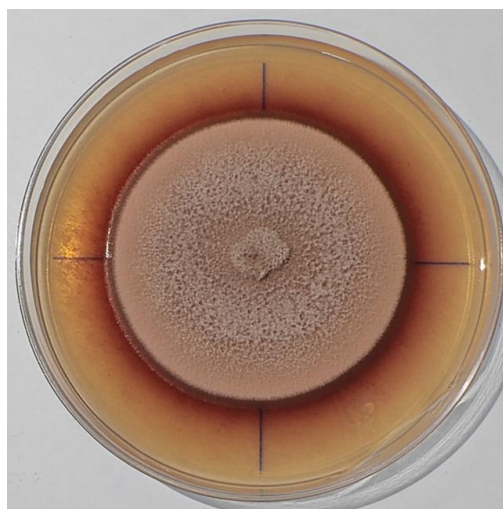
APD

Epicoccum nigrum

Figura 5. Monospórico de aislado *Epicoccum nigrum*.

Isaria fumosorosea

De acuerdo con el aislado 506, se identificaron características concordantes con las descritas para esta especie, tales como un cultivo simétrico medianamente elevado de un color violeta rojizo. Adoptó una textura polvosa con bordes regulares bien definidos de un aspecto plano tal como describe Nava (2022). Con un área promedio de 23 cm² impregnó de un tono café rojizo el medio, sin embargo, no produjo ni exudados sobre la superficie, tal y como se exhibe en la siguiente figura.



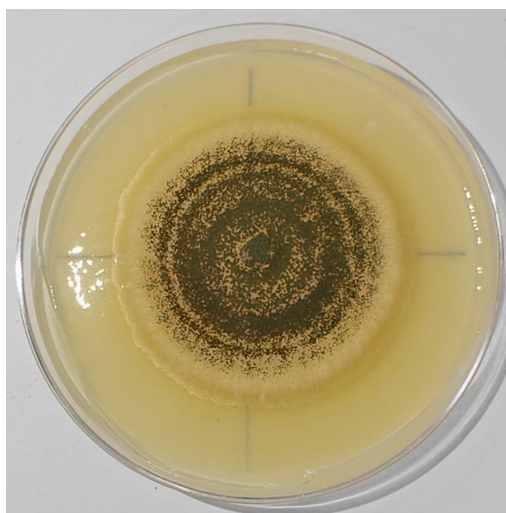
APD

Isaria fumosorosea

Figura 6. Monospórico de aislado *Isaria fumosorosea*.

Metarhizium robertsii

En el caso del aislado Mr 795, se presentaron rasgos morfológicos típicos de la especie, entre los que destacan un cultivo simétrico medianamente elevado, una textura plana polvosa ligeramente rugosa por el centro y bordes regulares bien definidos, y un color amarillento blanquecino con matices verdes a causa de sus conidióforos, como se observa en la Figura 7. De un área promedio de 25.5 cm², pigmento ligeramente amarillento en el medio más no produjo exudados sobre la superficie.



APD

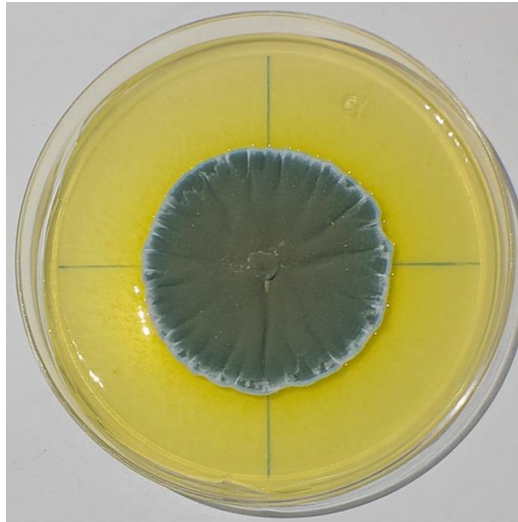
Metarhizium robertsii

Figura 7. Monospórico de aislado *Metarhizium robertsii*.

Penicillium

chrysogenum

Conforme al aislado 25, se evidenció un conjunto de características propias de la especie, entre ellas una simetría en el cultivo, de un color verde intenso por toda la superficie con bordes lobulados blanquecinos. Manifestó una textura polvosa y un aspecto plegado ligeramente elevado, además de un crecimiento moderado con un área promedio de 23.8 cm². Produjo un pigmento amarillento intenso en el medio y exudados de color dorado sobre la superficie, como se ilustra en la Figura 8.



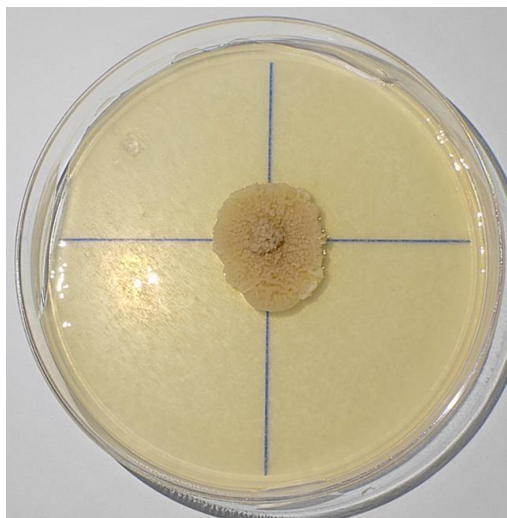
APD

Penicillium chrysogenum

Figura 8. Monospórico de aislado *Penicillium chrysogenum*.

Trichosporon asahii

Acorde al aislado *T. asahii*, se observan características típicas descritas para esta especie, siendo una asimetría de cultivo, un color blanco a crema, un aspecto agamuzado a farinoso, con surcos radiales, pliegues irregulares y bordes lobulados. Sumado a ello, presentó un crecimiento lento a 28 °C de un área promedio de 6.2 cm², no produjo pigmentos difusibles en medio ni exudados o gotas sobre la superficie, tal como se observa en la Figura 9.



APD

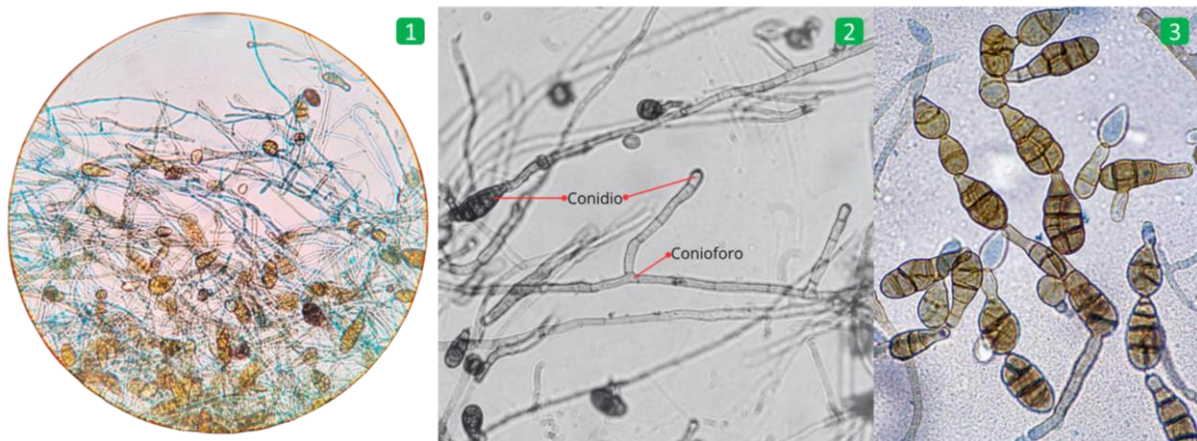
Trichosporon asahii

Figura 9. Monospórico de aislado *Trichosporon asahii*.

5.2.2 Micromorfología

Alternaria alternata

Conforme al aislado 46, se identificaron características micromorfológicas concordantes con las descritas para la especie, las cuales se corresponden con los rasgos diagnósticos del género descritos por Fabrega y asociados (2002), y por The University of Adelaide (2025), tales como la presencia de un micelio macrosifonado de hifas hialinas tabicadas, y presentar reproducción por medio de conidios pluricelulares denominados dictiosporas feodicticas dematiáceos, un tipo de espora pigmentada que se caracteriza por ser ovoide, enteramente septada transversalmente y longitudinalmente. Tal y como se puede observar en la imagen 2 de la Figura 10.

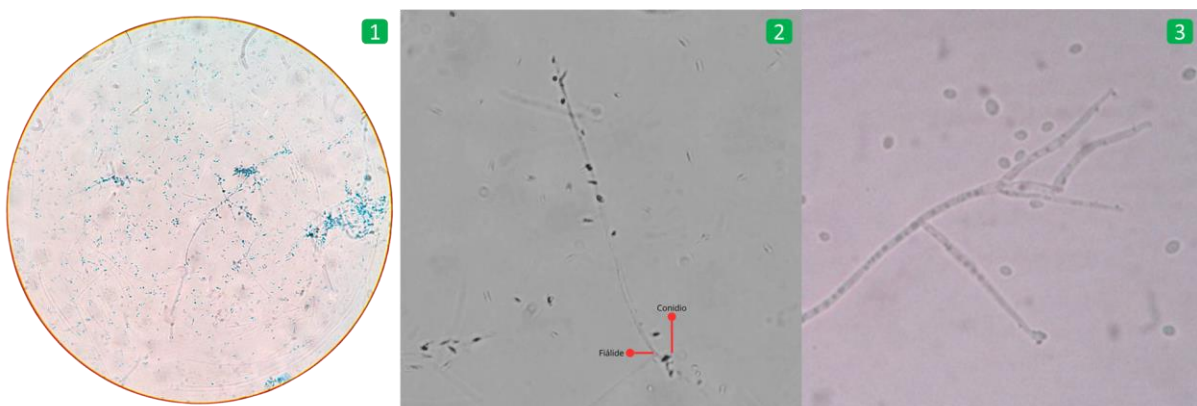


Alternaria alternata

Figura 10. *Alternaria alternata*. Fotografías 1 y 2 de elaboración propia, se tiñó con azul de algodón. La fotografía 1 se observa a 40x y la número 2 a 100x. Acorde a la fotografía 3, modificada de la página oficial de Mycology the University of Adelaide.

Akanthomyces lecanii

Acorde al aislado EH 458, los rasgos observados son concordantes con la descripción de la especie y con la micromorfología típica del género proporcionada por González-Dufau y asociados (2020). Siendo que éste se caracteriza por poseer micelio macrosifonado de hifas hialinas cenocíticas con fiálides en grupos de tres, cuyos conidios fueron de elipsoidales a cilíndricos como se aprecia en la imagen 2 de la Figura 11.

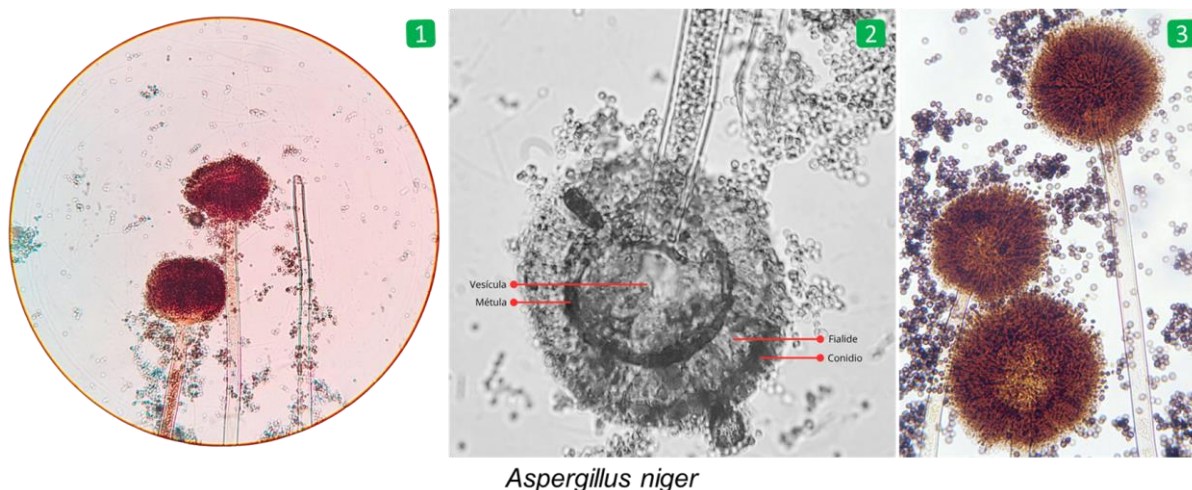


Akanthomyces lecanii

Figura 11. *Akanthomyces lecanii*. Fotografías 1 y 2 de elaboración propia, se tiñó con azul de algodón. La fotografía 1 se observa a 40x y la número 2 a 100x. Acorde a la fotografía 3, esta fue capturada de la página oficial de González-Dufau *et al.*, 2020.

Aspergillus niger

Conforme al aislado *A. niger* se presentó un micelio macrosifonado de hifas hialinas septadas en las que se observan cabezas conidiales grandes, globosas no ramificadas. Las cabezas conidiales de color marrón oscuro que recubren toda la vesícula dan la forma radiada típica. Los conidios son globosos a subglobosos, de color marrón oscuro a negro y de paredes rugosas (Gómez y Félix, 2022; The University of Adelaide, Micology, 2025). Esto concuerda con lo observado en la Figura 12.

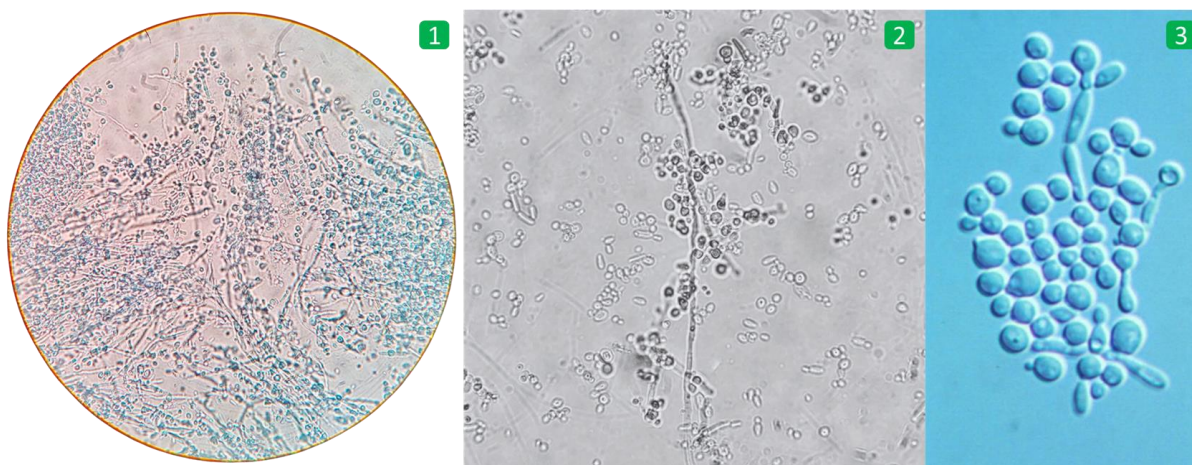


Aspergillus niger

Figura 12. *Aspergillus niger*. Fotografías 1 y 2 de elaboración propia, se tiñó con azul de algodón. La fotografía 1 se observa a 40x y la número 2 a 100x. Acorde a la fotografía 3, esta fue capturada de la página oficial de Mycology the University of Adelaide.

Candida tropicalis

Por parte del aislado perteneciente a la especie *C. tropicalis*, se identificaron características concordantes con las descritas para esta especie, tales como la presencia de blastoconidios cortos esféricos a semiesféricos, similares a los de levaduras, además de presentar cadenas alargadas de células que dan forma a las pseudohifas, tal como se observa en la imagen 2 de la Figura 13 (The University of Adelaide, Micology, 2025).



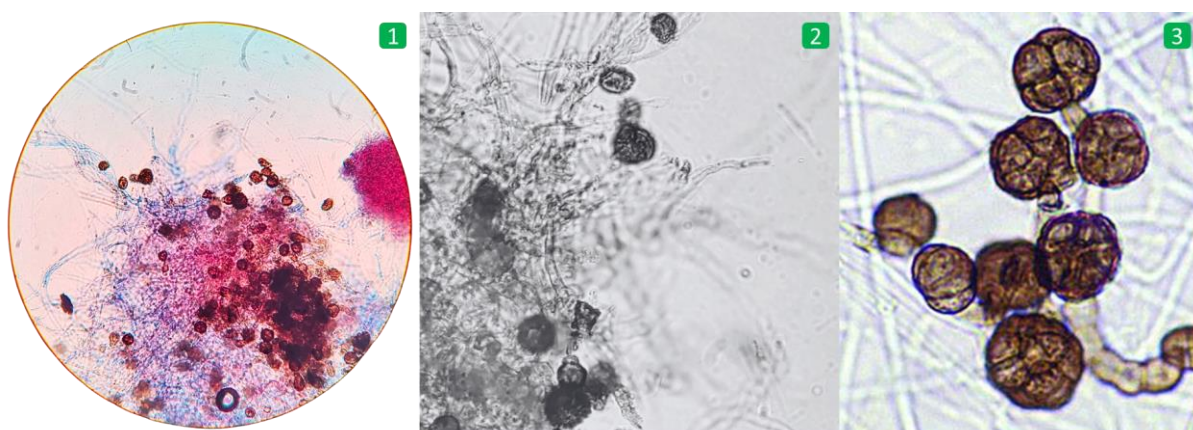
Candida tropicalis

Figura 13. *Candida tropicalis*. Fotografías 1 y 2 de elaboración propia, se tiñó con azul de algodón. La fotografía

1 se observa a 40x y la número 2 a 100x. Acorde a la fotografía 3, esta fue capturada de la página oficial de Mycology the University of Adelaide.

Epicoccum nigrum

De acuerdo con el aislado 16, las características observadas coinciden con las descritas para la especie y son consistentes con los criterios proporcionados por The University of Adelaide (2025). Así como la presencia de un micelio macrosifonado de hifas hialinas cenocíticas y dictyoconidios globosos a piriformes con una base en forma de embudo, de pigmentación oscura y una superficie externa verrucosa, como se ilustra en la imagen 1 y 2 de la Figura 14.

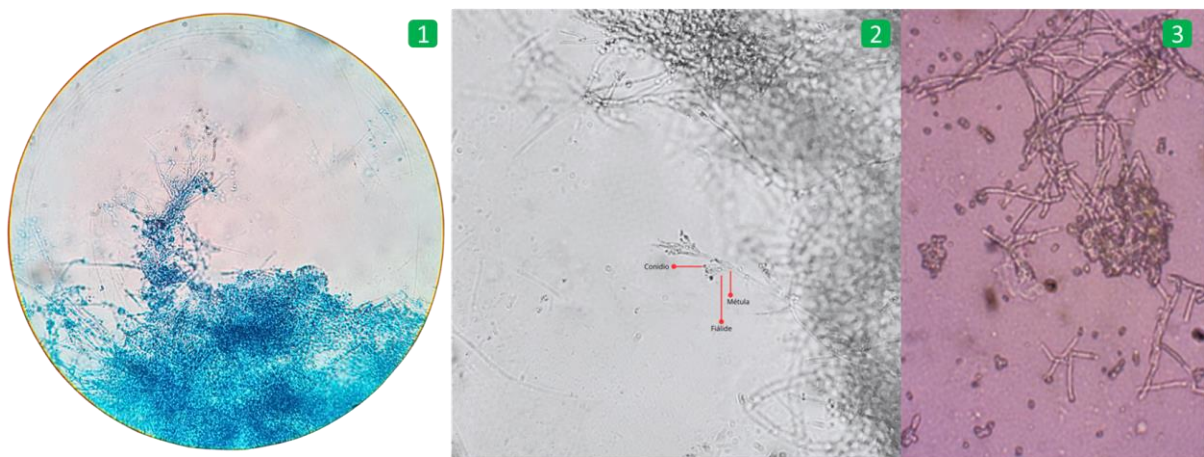


Epicoccum nigrum

Figura 14. *Epicoccum nigrum*. Fotografías 1 y 2 de elaboración propia, se tiñó con azul de algodón. La fotografía 1 se observa a 40x y la número 2 a 100x. Acorde a la fotografía 3, esta fue capturada de la página oficial de Mycology the University of Adelaide.

Isaria fumosorosea

En el caso del aislado 506, se observaron rasgos micromorfológicos compatibles con la descripción de la especie, incluyendo la presencia de hifas hialinas a amarillosas, septadas, con fiálides que constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio en forma de pincel, llevando cadenas de conidios, hialinas, unicelulares y de forma ovoide (Nava, 2022) (Figura 15).

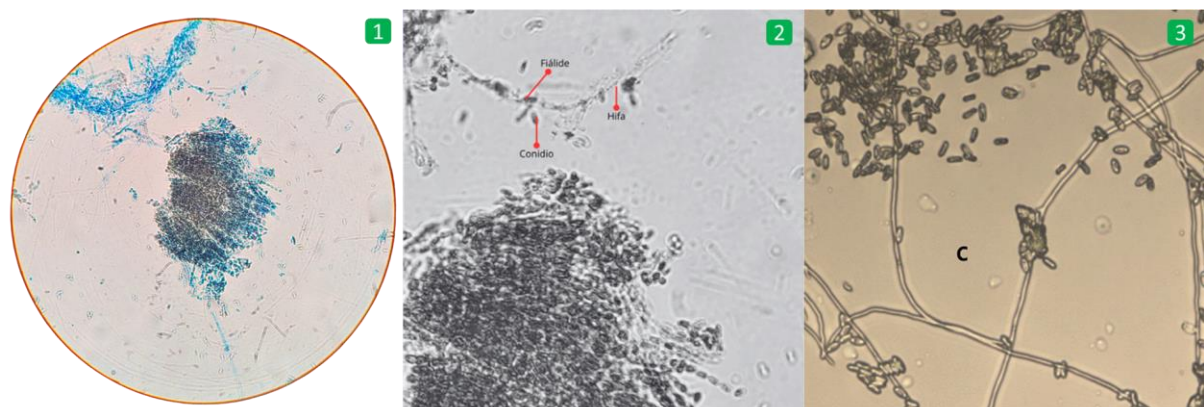


Isaria fumosorosea

Figura 15. *Isaria fumosorosea*. Fotografías 1 y 2 de elaboración propia, se tiñó con azul de algodón. La fotografía 1 se observa a 40x y la número 2 a 100x. Acorde a la fotografía 3, esta fue capturada por Purnima et al. 2022.

Metarhizium robertsii

Correspondiente al aislado Mr 795, se identificó concordancia entre los rasgos del género *Metarhizium* que expone Geremew y asociados (2024) y las características del aislado. Entre ellos un micelio macrosifonado de hifas hialinas septadas cuyas fiálides se ven como pequeñas aglomeraciones subglobosas predominantemente anchas dispuestas en racimos apretados a lo largo de hifas septadas y conidios ligeramente elipsoidales o cilíndrico-ovoides que aparecen como cadenas cortas de esferas verdosas, tal como se muestra en la imagen 3 de la Figura 16.



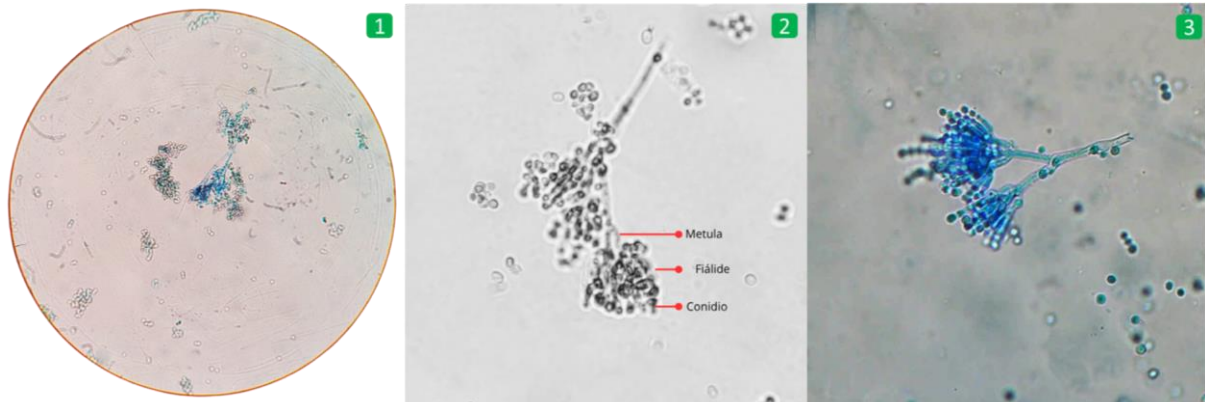
Metarhizium robertsii

Figura 16. *Metarhizium robertsii*. Fotografías 1 y 2 de elaboración propia, se tiñó con azul de algodón. La fotografía 1 se observa a 40x y la número 2 a 100x. Acorde a la fotografía 3, esta fue capturada por Geremew et al. 2024.

Penicillium chrysogenum

Por parte del aislado 25, se identificaron características morfológicas concordantes con las descritas por Gómez y Félix (2022) y The University of Adelade (2025) para la especie, las cuales se corresponden con los rasgos diagnósticos del género tales como, la presencia de micelio macrosifonado de hifas hialinas a verdes claro, septadas, conidióforos

hialinos de patrón ramificado de dos etapas (biverticilado-asimétrico) cuyas fiálides en forma de matraz dispuestas en verticilos forman los pinceles, y conidios unicelulares, hialinos o verdosos, globosos, elipsoides a cilíndricos de paredes lisas o rugosas, como se puede observar en la imagen 1 y 2 de la Figura 17.

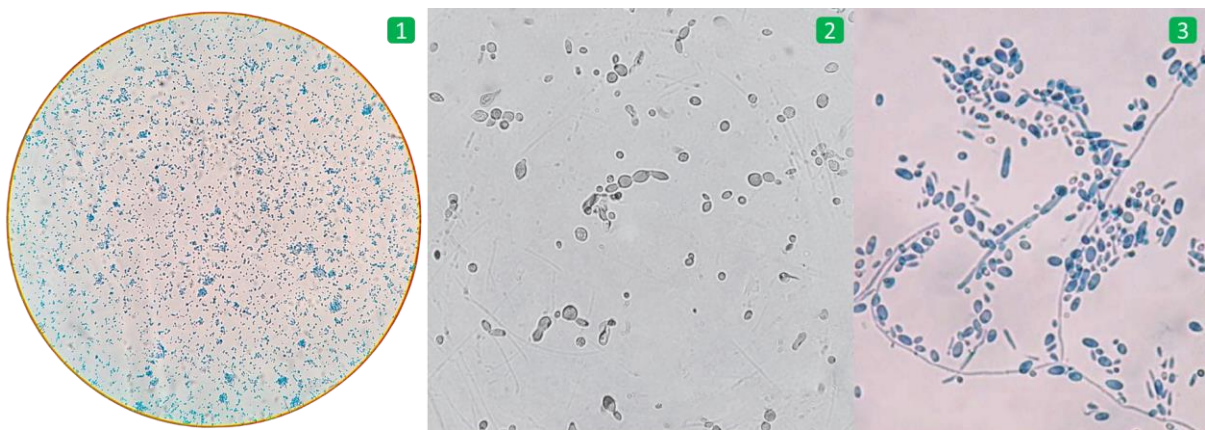


Penicillium chrysogenum

Figura 17. *Penicillium chrysogenum*. Fotografías 1 y 2 de elaboración propia, se tiñó con azul de algodón. La fotografía 1 se observa a 40x y la número 2 a 100x. Acorde a la fotografía 3, esta fue capturada de "MICOLOGÍA DEL ATLAS".

Trichosporon asahii

Acorde al asilado del género *Trichosporon*, las características observadas en el aislado coinciden con las descritas por The University of Adelaide (2025) para la especie tales como la presencia de artroconidios ovalados o rectangulares, como se observa en la imagen 2 de la Figura 18.



Trichosporon asahii

Figura 18. *Trichosporon asahii*. Fotografías 1 y 2 de elaboración propia, se tiñó con azul de algodón. La fotografía 1 se observa a 40x y la número 2 a 100x. Acorde a la fotografía 3, esta fue capturada de "MICOLOGÍA DEL ATLAS".

5.3 Fase de evaluación fisiológica:

5.3.1 Temperatura

En la siguiente tabla (Tabla 3) se exponen los resultados en cuanto medidas de crecimiento de los aislados (observar Anexo 2). Se observó un mayor crecimiento de los aislados filamentosos como lo son *A. alternata*, *A. lecanii*, *A. niger*, *E. nigrum*, *I. fumosorosea*, *M. robertsii* y *P. chrysogenum* a 28 °C, y un mayor crecimiento de los aislados levaduriformes como lo son *C. tropicalis* y *T. asahii* a 37 °C. Resaltando el amplio crecimiento que tuvo el aislado de *A. niger* en ambos medios en ambas temperaturas y el aislado de *A. lecanii* que únicamente presentó crecimiento a 28 °C, al igual que *E. nigrum*. Adicional a esto, se observó un mayor crecimiento en medio SDA en ambas temperaturas para la mayoría de los aislados, siendo el aislado de *A. alternata* el único que presentó mayor crecimiento en medio APD.

Acorde a las medidas conidiales, se contemplan en la tabla posterior (Tabla 4). Se observa un tamaño promedio de 20.8 µm para *A. niger*, lo que concuerda con lo reportado por The University of Adelaide, al igual que *C. tropicalis*, *E. nigrum*, *P. chrysogenum* y *T. asahii*, de acuerdo con la misma institución; en el caso *A. alternata* el tamaño observado concuerda con lo reportado por Caballero y asociados (2025); *A. lecanii* reportó un tamaño promedio de 3.78 µm, mayor al reportado por Ayala-Zermeño (2006) con 2.4 µm; las dimensiones conidiales de *I. fumosorosea* concordaron con lo reportado por Gandarilla-Pacheco y asociados (2018); de igual manera *M. robertsii* mostró dimensiones concordantes con lo observado por Méndez-González (2022).

Tabla 3. Medidas de crecimiento de cepas a largo y ancho, a 28 y 37 ° C.

ID	Identificación morfológica	Identificación molecular	Medio (APD o SDA)	Temperatura (° C)	Tamaño (cm)	Área (cm²)	$\bar{x}$ (cm²)	Desviación (cm²)	Varianza (cm)	Desviación estándar (cm²)
46	<i>Alternaria spp.</i>	<i>Alternaria alternata</i>	SDA	28	7 x 6.4	35.186	18.866	266.342	532.684	23.081
				37	1.8 x 1.8	2.545				
			APD	28	7.4 x 7.4	43.008	22.777	409.314	818.627	28.612
				37	1.8 x 1.8	2.545				
EH 458	<i>Akanthoymces spp.</i>	<i>Akanthoymces lecanii</i>	SDA	28	2.5 x 2.5	4.91	2.455	6.027	12.054	3.471
				37	0 x 0	0				
			APD	28	1.95 x 1.9	2.91	1.455	2.117	4.234	2.057
				37	0 x 0	0				
27	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Aspergillus niger</i>	SDA	28	8.5 x 8.5	56.745	53.505	10.498	20.996	4.582
				37	8 x 8	50.265				
			APD	28	8 x 8	50.265	37.667	158.710	317.419	17.816
				37	5.7 x 5.6	25.069				
/	<i>Candida spp.</i>	<i>Candida tropicalis</i>	SDA	28	2.3 x 2.1	3.793	4.551	0.574	1.148	1.072
				37	2.6 x 2.6	5.309				
			APD	28	2.1 x 2	3.299	3.864	0.319	0.638	0.799
				37	2.4 x 2.35	4.429				
16	<i>Epicoccum spp.</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	SDA	28	6.7 x 6.6	34.73	17.365	301.543	603.086	24.558
				37	0 x 0	0				
			APD	28	5.1 x 4.7	18.826	9.413	88.604	177.208	13.312
				37	0 x 0	0				
EH 253 (506)	<i>Isaria spp.</i>	<i>Isaria fumosorosea</i>	SDA	28	4.5 x 4.6	16.258	9.857	40.973	81.946	9.052
				37	2.2 x 2	3.456				
			APD	28	4.1 x 4	12.881	7.509	28.858	57.716	7.598
				37	1.7 x 1.6	2.136				
Mr 795	<i>Metarhizium spp.</i>	<i>Metarhizium robertsii</i>	SDA	28	5 x 4.4	17.279	9.405	61.999	123.998	11.136
				37	1.5 x 1.3	1.531				
			APD	28	5 x 4.5	17.671	9.401	68.393	136.786	11.696
				37	1.2 x 1.2	1.131				
25	<i>Penicillium spp.</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	SDA	28	6.2 x 6.2	30.191	15.755	208.398	416.796	20.416
				37	1.4 x 1.2	1.319				
			APD	28	5.3 x 5.2	21.646	11.098	111.281	222.562	14.918
				37	1 x 0.7	0.549				
/	<i>Trichosporon spp.</i>	<i>Trichosporon asahii</i>	SDA	28	5.6 x 5.2	22.871	16.329	42.811	85.622	9.252
				37	4.5 x 2.8	9.786				
			APD	28	2.1 x 2	3.299	3.142	0.025	0.05	0.223
				37	2 x 1.9	2.984				

Tabla 4. Dimensiones promedio conidiales de cada aislado.

Nombre	Largo (μm)	Ancho (μm)	$\bar{x}$ (μm ²)
<i>A. niger</i>	6.60	4.02	20.84
<i>A. alternata</i>	1.34	0.76	0.80
<i>A. lecanii</i>	1.24	1.24	3.78
<i>C. tropicalis</i>	3.04	2.73	6.53
<i>E. nigrum</i>	6.29	5.21	25.72
<i>I. fumosorosea</i>	0.98	0.97	0.75
<i>M. robertsii</i>	1.94	0.98	1.49
<i>P. chrysogenum</i>	1.00	1.00	2.47
<i>T. asahii</i>	3.20	2.27	5.69

5.3.2 Medios

De acuerdo con los datos previamente expuestos, como se observa en la Figura 19. Los aislados tuvieron un mayor crecimiento en SDA.



Figura 19. Crecimiento de aislados a 28 °C y 37 °C. En el gráfico a de color verde, se expone el crecimiento de los aislados en medio SDA y APD a 28 °C, y en el gráfico b de un color anaranjado, se expone el crecimiento de los aislados de igual manera en medio SDA y APD a 37 °C.

Conforme a esto, se destaca mayor desarrollo de micelio vegetativo para cada aislado,

y en el caso del medio APD, la tendencia observable es la gran producción micelio reproductivo mediante una mayor presencia de conidios.

Esto en consecuencia de la composición de cada medio, en el caso de SDA, este contiene peptona y dextrosa en proporciones más altas (10 g/L y 40 g/L, respectivamente), siendo un medio más ácido y menos rico en nutrientes complejos, diseñado originalmente para controlar bacterias sin afectar el desarrollo fúngico (Atlas, 2010; Larone, 2018). De manera que, el hongo en esta fase vegetativa activa invierte su energía en formar hifas y explorar el sustrato, más que en reproducirse. Siendo que la limitación de nutrientes complejos (como los presentes en el PDA) retarda la esporulación y favorece la extensión del micelio (Forbes, *et al.*, 2007), sin embargo, el micelio denso y extenso favorece luego una esporulación más abundante y sostenida (Deacon, 2006).

El medio APD por otra parte, PDA, elaborado a partir de infusión de papa (extracto vegetal) y dextrosa, contiene azúcares, vitaminas, aminoácidos y minerales provenientes del tubérculo, favoreciendo un crecimiento rápido, pigmentación y esporulación visible, sin embargo, esto en conjunto con su pH ligeramente menos ácido, lo hace menos selectivo, permitiendo en algunos casos el crecimiento de bacterias o mohos de rápido desarrollo (Forbes, *et al.*, 2007; De Hoog, *et al.*, 2019). En consecuencia, cuando un hongo esporula rápidamente, significa que entra pronto en su fase reproductiva, produciendo conidios o esporas en poco tiempo. Esto puede ocurrir bajo dos tipos de condiciones: como respuesta al estrés ambiental o, en medios muy nutritivos, como resultado de un desarrollo metabólico completo. Como lo es en el caso del APD, su alto contenido de compuestos vegetales y azúcares estimula la fase reproductiva del hongo, promoviendo la activación de rutas metabólicas secundarias como la esporulación y la pigmentación, lo que permite completar el ciclo reproductivo con mayor rapidez. Este comportamiento, característico de hongos saprófitos o ambientales como *Alternaria*, *Penicillium* o *Epicoccum* (Forbes, *et al.*, 2007; Larone, 2018; De Hoog, *et al.*, 2019). Esto demuestra que la composición del medio determina el equilibrio entre crecimiento y reproducción en los hongos.

5.4 Fase de identificación molecular:

Se obtuvo el ADN de los 9 aislados, cuyos valores se exponen en la siguiente tabla (Tabla 5).

Tabla 5. Cuantificación del DNA. Aquellos valores superiores a 100 ng/μL y cercanos fueron ajustados a 50 ng/μL. Los valores en la columna A260/280, corresponden a los valores de absorción.

ID	Aislado	Concentración (ng/μL)	Calidad/Pureza del ADN (A260/A280)
46	<i>A. alternata</i>	86.5	1.80
EH 458	<i>A. lecanii</i>	83.6	1.85
27	<i>A. niger</i>	99.8	1.80
/	<i>C. tropicalis</i>	86.02	1.87
16	<i>E. nigrum</i>	98.2	1.97
EH 253 (506)	<i>I. fumosorosea</i>	55.9	1.82
Mr. 795	<i>M. robertsii</i>	293.1	1.85
25	<i>P. chrysogenum</i>	104.9	1.84
/	<i>T. asahii</i>	61.02	1.80

Ante los resultados de la PCR, como se aprecia en la siguiente figura (Figura 20), todos los aislados presentan bandas con un peso molecular entre 500 y 600 pb. Este patrón coincide con lo establecido en la literatura: Woudenberg y asociados (2015) señalan que *A. alternata* muestra amplicones ITS1/ITS4 de 520–540 pb; Zare y Gams (2001) describen para *A. lecanii* un rango de 600–630 pb; Samson y colaboradores (2014) registran en *A. niger* valores entre 565–613 pb; Feng *et al.* (2014) reportan para *C. tropicalis* amplicones de 517–528 pb; Chen y asociados (2017), indican que *E. nigrum* se ubica entre 570–590 pb; Kepler *et al.* (2017), señalan para *I. fumosorosea* un rango de 580–590 pb; Bischoff y colaboradores (2009), describen en *M. robertsii* una variación de 500–580 pb; Houbraken *et al.* (2011), establecen para *P. chrysogenum* valores de 540–580 pb; y Sugita *et al.* (2002) registran para *T. asahii* amplicones de 535–545 pb.

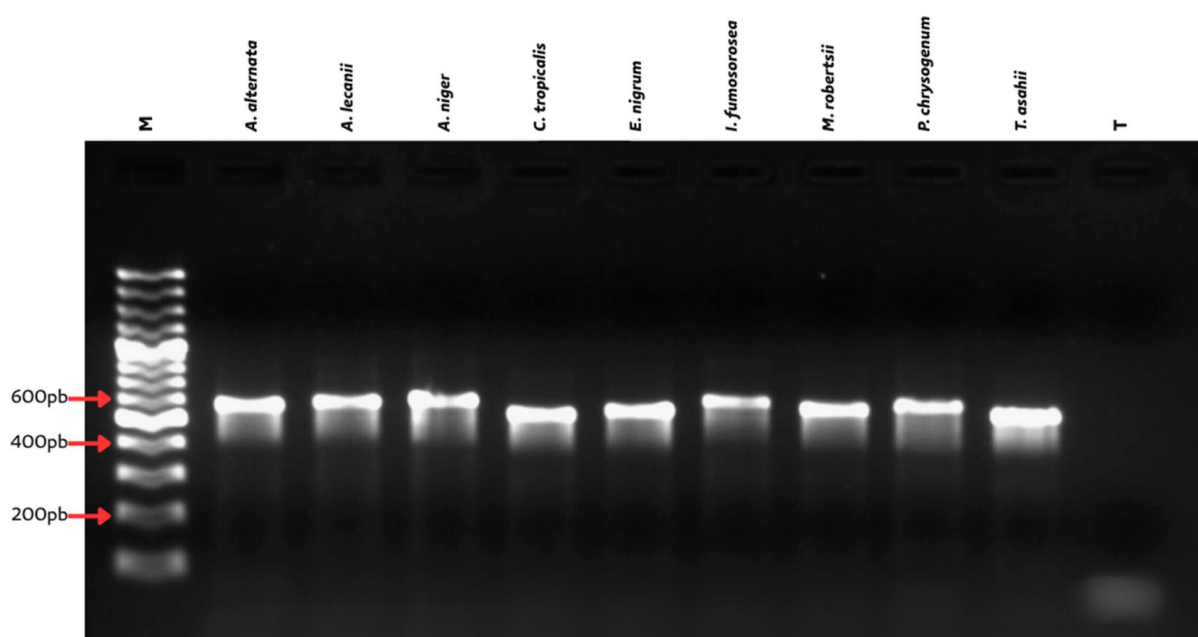


Figura 20. Productos de PCR de los aislados con ITS1 y ITS4. M = marcador de peso molecular de 100 bp DNA ladder; T = testigo negativo. La electroforesis se realizó en gel de agarosa al 1.5 % a 90 V, 45 min.

5.5 Fase de conservación:

Se realizó el cultivo de conservación de todos los aislados, conservando en total 6 tubos por aislado, en agua glicerinada ($n = 2$) se conservó en forma de micelio tanto vegetativo como reproductivo (Figura 21), agua destilada ($n = 2$) de igual manera se conservó en forma de micelio tanto vegetativo como reproductivo (Figura 22), y por último, medio de APD inclinado ($n = 2$) en que se conservó en forma de micelio reproductivo (Figura 23). La temperatura de mantenimiento para todos los aislados fue de reservados a -2°C .

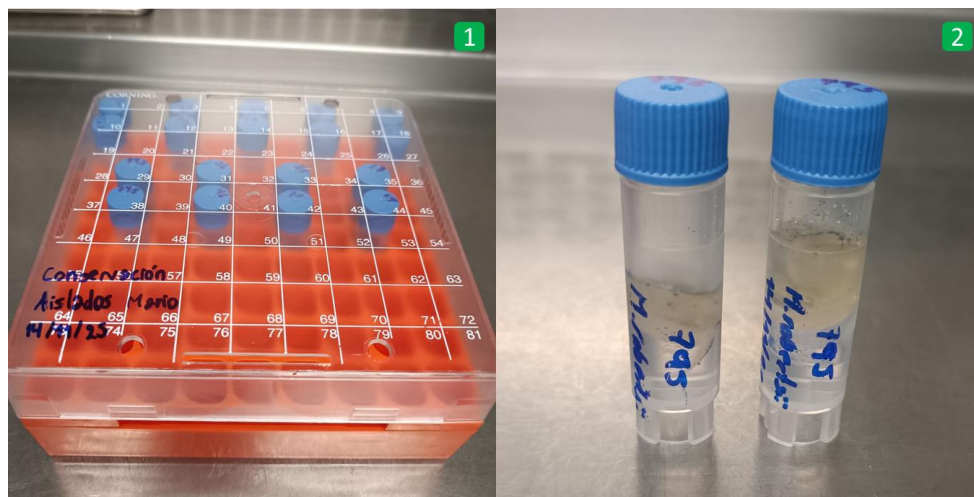


Figura 21. Cultivo en tubos de tapa rosca (de 2 mL) con 1 mL de agua glicerinada al 10%. En la imagen #1 se observan los 18 tubos pertenecientes a los 9 aislados y en la imagen #2 se observan los tubos empleados con *M. robertsii* como ejemplo. Se emplearon los siguientes datos sobre el etiquetado: ID, Nombre y fecha de cultivo.



Figura 22. Cultivo en tubos de tapón (de 10 mL) con 5 mL agua destilada. En la imagen #1 se observan los 18 tubos pertenecientes a los 9 aislados y en la imagen #2 se observan los tubos empleados con *P. chrysogenum* como ejemplo. Se emplearon los siguientes datos sobre el etiquetado: ID, Nombre y fecha de cultivo.

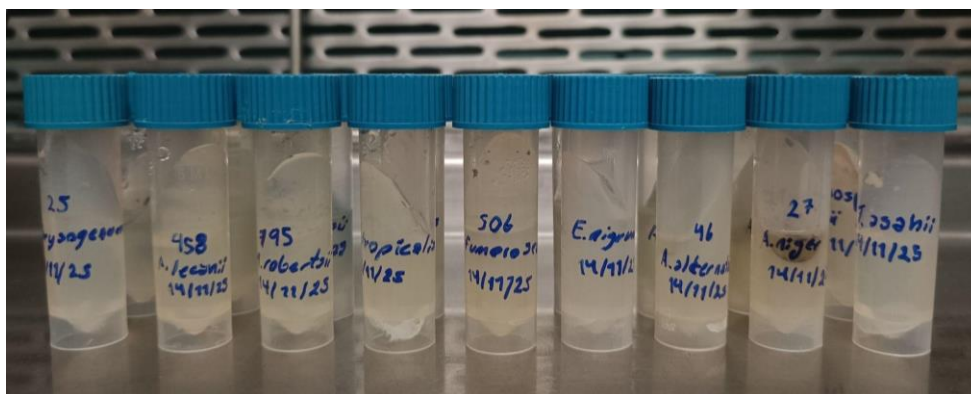


Figura 23. Cultivo en tubos tapa rosca (de 5 mL) de medio APD inclinado. Se observan los 18 tubos pertenecientes a los 9 aislados. Se emplearon los siguientes datos sobre el etiquetado: ID, Nombre y fecha de cultivo.

5.6 Fase de integración y aplicación de resultados:

Integración

de

Datos:

A partir de la descripción de los datos morfológicos, fisiológicos y moleculares obtenidos a lo largo del estudio, se realizó la siguiente tabla.

Tabla 6. Descripción morfológica, fisiológica y molecular de los aislados.

Nombre	Morfología				Fisiología	Molecular
	Color de micelio al madurar	Textura (algodonosa, aterciopelada, polvosa, lisa, gelatinosa)	Bordes (definidos, lobulados, difusos)	Topografía (plana, rugosa, plegada, elevada, crateriforme)	Temperatura óptima (°C)	Región ITS (pb)
<i>A. alternata</i>	Negro oliváceo	Aterciopelada	Difusos	Elevada	28	520–540
<i>A. lecanii</i>	Blanco levemente amarillento	Algodonosa	Definidos ligeremanete lobulados	Crateriforme	28	600–630
<i>A. niger</i>	Marrón oscuro a negro	Polvosa/aterciopelada	Difusos	Elevada	28	560–610
<i>C. tropicalis</i>	Blanco a crema	Lisa/gelatinosa	Definidos ligeremanete lobulados	Plana	37	515–530
<i>E. nigrum</i>	Marrón rojizo	Aterciopelada/vellosa	Difusos ligeremanete lobulados	Pleglada	28	570–590
<i>I. fumosorosea</i>	Violeta oscuro	Aterciopelada/polvosa	Definidos	Plana	28	580–590
<i>M. robertsii</i>	Verde terroso	Polvosa	Definidos	Plana	28	500–580
<i>P. chrysogenum</i>	Verde intenso	Polvosa	Definidos ligeremanete lobulados	Pleglada	28	540–580
<i>T. asahii</i>	Blanco a crema	Gelatinosa	Lobulados	Pleglada/rugosa	37	535–545

Acorde a la evaluación del potencial de los aislados en base a sus aplicaciones biotecnológicas e impactos en la salud humana, se obtuvo la siguiente tabla (Tabla 7).

Tabla 7. Aplicaciones tecnológicas e impactos en la salud humana de los aislados. Los datos presentes en esta tabla fueron recabados bibliográficamente.

Especie	División	Aplicaciones tecnológicas	Impactos en la salud humana
<i>A. niger</i>	Ascomycota	Producción industrial de ácido cítrico y enzimas (Portillo, 2025). Biorremediación de contaminación por metales pesados (Carangui, et al., 2024). Bioherbicida (Abbas, 1995); producción de metabolitos secundarios como melaninas, tenuazona, alternariol, y ácido tenuazónico; síntesis de enzimas hidrolíticas y oxidativas como Celulasas, xylanasas, lacasas, amilasas, lipasas (Mousa y Raizada, 2013).	Aspergilosis pulmonar, reacciones alérgicas como rinitis, conjuntivitis y dermatitis. Ante una exposición prolongada puede provocar micosis invasiva (Vargas-Torrico, et al., 2025).
<i>A. alternata</i>	Ascomycota	Pesticida contra el pulgón negro y termitas (Isma'il, et al., 2023; Baker, et al., 2025)	Rinitis alérgica, conjuntivitis y exacerbaciones de asma (Abel-Fernández, et al., 2023).
<i>A. lecanii</i>	Ascomycota	Producción biotecnológica de xilitol (Vallejos, et al., 2013).	El riesgo directo a salud humana es bajo en población general al ser entomopatógeno de uso agrícola.
<i>C. tropicalis</i>	Ascomycota	Producción de una variedad de metabolitos antifúngicos y pigmentos como flavipina, epicorazinas A y B, epirodina, epicoclonona y una variedad de pigmentos carotenoides. En la fabricación biosintética de nanopartículas de plata y oro.	Candidiasis invasiva con mortalidad significativa en infecciones invasivas y resistencias antifúngicas (Keighley, et al., 2024).
<i>E. nigrum</i>	Ascomycota	Micro Insecticida contra plagas agrícolas (Fundación PROINPA, 2019; Nava, 2022).	Reacciones alérgicas y sinusitis fúngica (Charron, et al., 2022).
<i>I. fumosorosea</i>	Ascomycota	Agente de biocontrol de insectos y bioinoculante de plantas (Mesquita, et al., 2023).	Presenta riesgos potenciales por metabolitos secundarios (mycotoxinas) (Weng, et al., 2019)
<i>M. robertsii</i>	Ascomycota	Producción de penicilina; metabolitos secundarios; biorremediación de suelos (Xu, et al., 2015).	El riesgo directo a salud humana es bajo en población general al ser entomopatógeno empleado en biocontrol.
<i>P. chrysogenum</i>	Ascomycota	Producción de micotoxinas; deterioro alimentario; enzimas hidrolíticas (Fierro, et al., 2022).	Alergias respiratorias y asma en ambientes interiores con moho, infecciones oculares o sistémicas raras en pacientes vulnerables (Yong Joo, et al., 2005).
<i>T. asahii</i>	Basidiomycota		Patógeno oportunista vinculado a infecciones invasivas como fungemia, infecciones del tracto urinario, endocarditis, etc. (Li, et al., 2020).

5.- Conclusiones

El trabajo realizado permitió mantener una colección de hongos filamentosos y levaduriformes adecuadamente conservada y caracterizada, proveniente de diversas fuentes, lo que representa un aporte significativo para el estudio de la diversidad fúngica. La identificación morfológica de los aislados, basada en características microscópicas y coloniales, permitió una primera aproximación taxonómica confiable, que fue fortalecida mediante la evaluación fisiológica y los ensayos de crecimiento bajo diferentes condiciones ambientales, evidenciando la variabilidad adaptativa de los organismos estudiados. Por otro lado, la aplicación de herramientas moleculares, particularmente la extracción de ADN y la amplificación de la región ITS mediante PCR, brinda datos para robustecer el banco de secuencias del Laboratorio de Micología Básica, del Departamento de Microbiología y Parasitología, UNAM.

Este estudio, apoyado por una revisión bibliográfica, resalta el potencial biotecnológico y la relevancia en salud pública de las especies identificadas, sentando bases sólidas para estudios posteriores y aplicaciones futuras.

6.- Metas alcanzadas

Se realizó la conservación, identificación morfológica, fisiológica y molecular para hongos filamentosos y levaduriformes, a fin de ampliar el conocimiento sobre su diversidad y potenciar sus aplicaciones en biotecnología y salud pública.

1. Se preservaron muestras representativas de hongos filamentosos y levaduriformes provenientes de diversas fuentes.
2. Se identificaron morfológicamente los aislados mediante técnicas microscópicas y características morfológicas coloniales.
3. Se realizaron ensayos de crecimiento y respuesta a variables ambientales (temperatura, nutrientes).
4. Se implementaron técnicas moleculares como: extracción de ADN, PCR, para la amplificación de la región ITS.
5. Se logró la descripción sistemática de la información morfológica, fisiológica y molecular de los aislados analizados, complementada con una revisión bibliográfica del potencial biotecnológico y de la relevancia en salud pública de las especies identificadas.

7.- Bibliografía

1. Abbas, H. K. (1995). *Alternaria alternata and its toxins as bioherbicides*. *Weed Science*, 43(3), 474–479.
2. Abel-Fernández, E., Martínez, M. J., Galán, T., Pineda, F. (2023). Hablando sobre alergias fúngicas: *Alternaria alternata* y sus alérgenos. *Journal of fungi* (Basilea, Suiza), 9(5), 582. <https://doi.org/10.3390/jof9050582>
3. Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., y Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology*. Wiley.
4. Atlas, R. M. (2010). *Handbook of Microbiological Media* (4th ed.). CRC Press.
5. Ayala-Zermeño, M. A. (2006). Caracterización fenotípica del hongo *Lecanicillium lecanii* (Zimmerm.) Zare & W. Gams (syn. *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viégas) para la selección de los aislados idóneos en el control biológico de la mosquita blanca (*Homoptera: Aleyrodidae*). Tesis de posgrado. UNAM.
6. Baker, P. W., Nuwamanya, E., Charlton, A. (2025). Mejora de la tolerancia térmica de las esporas de biocontrol, *Akanthomyces lecanii*, por encapsulación. *FEMS Microbiology Letters*, 372, fnaf062. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaf062>
7. Bermeo, L. P. y Castro, K. (2021). Methods for the culture conservation of edible and castro, medicinal fungi. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10(4), 620–625. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2021.10.4.620-625>
8. Bischoff, J. F., Rehner, S. A., Humber, R. A. (2009). *A multilocus phylogeny of the Metarhizium anisopliae lineage*. *Mycologia*, 101(4), 512–530.
9. Brunner Mendoza, C. A. (2012). *Obtención de un marcador molecular para la identificación del hongo entomopatógeno Metarhizium anisopliae*. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina, UNAM.

10. Caballero, F. Regidor, E. Marcos, P. (2025). *Alternaria porri*. *El jardín secreto de las esporas. Microscopía fúngica*. Disponible en: <https://microscopiafungica.blogspot.com/2025/09/alternaria-porri.html>
11. Capriles, C. Mata, S. Middelveen, M. (1989). Preservation of fungi in water (Castellani): 20 years. *Mycopathologia*. 106. 73-9. 10.1007/BF00437084.
12. Carangui, E., Naula, S., Pinos, K. (2024). *Eficiencia de Aspergillus niger en la adsorción de metales pesados*. DOI:10.13140/RG.2.2.13081.80483
13. Castro, E. (2020). Mundo nano. *Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*. ISSN 2007-5979
14. Charron, T. L., Gill, M. A., Filkins, L. M., Rajaram, V., Wysocki, C. A., Whittemore, B. A. (2022). Obstructive hydrocephalus and intracerebral mass secondary to *Epicoccum nigrum*. *Medical mycology case reports*, 35, 18–21. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2022.01.002>
15. Chen, Q., Hou, L. W., Duan, W. J., Crous, P. W., Cai, L. (2017). *Didymellaceae revisited*. *Studies in Mycology*, 87, 105–159.
16. Danner, C., Mach, R. L., y Mach-Aigner, A. R. (2023). The phenomenon of strain degeneration in biotechnologically relevant fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107, 4745–4758. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12615-z>
17. Davis, R. H., y de Serres, F. J. (1970). *Genetic and microbiological research techniques for Neurospora crassa*. *Methods in Enzymology*, 17, 79–143.
18. Deacon, J. W. (2006). *Fungal Biology*. Blackwell Publishing.
19. del Río, E., y Sogorb, M. A. (2014). Recuento en cámara de Neubauer. Universitas Miguel Hernández, División Toxicológica.
20. De Hoog, G. S., Guarro, J., Gené, J., Figueras, M. J. (2019). *Atlas of Clinical Fungi* (4th ed.). CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. Disponible en: <https://www.clinicalfungi.org>
21. Ellis, M. B. (1971). *Dematiaceous hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute.
22. Ellis, J. J. (1979). Preserving Fungus Strains in Sterile Water. *Mycologia*, 71(5), 1072–1075. <https://doi.org/10.2307/3759297>
23. Fabrega, A. Agut, M. Calvo, M. (2002). *El género de Alternaria: características morfológicas y capacidad de producción de micotoxinas*. *Anales de la Real Academia de Doctores Volumen 6*, pp. 357-367, 2002
24. Feng, X., Ling, B., Yang, J., Zhou, X., Li, X. (2014). Identification of *Candida* species using PCR-based ITS sequencing and MALDI-TOF MS. *Journal of Microbiological Methods*, 106, 26–30.
25. Fierro, F., Vaca, I., Castillo, N. I., García-Rico, R. O. Chávez, R. (2022). *Penicillium chrysogenum*, un modelo vintage con un perfil de vanguardia en biotecnología. *Microorganismos*, 10(3), 573. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030573>
26. Forbes, B. A., Sahm, D. F., y Weissfeld, A. S. (2007). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* (12th ed.). Mosby Elsevier.
27. Fundación PROINPA. (2019). *Nota técnica: Bioinsecticida a base de conidias de Isaria fumosorosea como agente de control biológico* [Nota técnica]. PROINPA.
28. Gandarilla-Pacheco, F. Morales-Ramosa L. H. Pereyra-Alfárez, B. Elías-Santosa, M. Quintero-Zapata, I. (2018). Producción de unidades infectivas de *Isaria fumosorosea* (*Hypocreales: Cordycipitaceae*) a partir de aislados nativos del noreste de México mediante 3 estrategias de propagación. *Revista Argentina de Microbiología /*

Argentinean Journal of Microbiology. Vol. 50. Issue 1. pp 81-89. DOI: [10.1016/j.ram.2017.03.008](https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.03.008)

29. Geremew D, Shiberu T and Leta A. (2024). Isolation, morphological characterization, and screening virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium robertsii* fungal isolates on *Galleria mellonella* [version 5; peer review: 2 approved]. *Research*, 12:827. <https://doi.org/10.12688/f1000research.134020.5>
30. González-Dufau, G. I. Santamaría-Guerra, J. Castrejon, K. Santo, U. Sanjur, M. Herrera, I. Monzón, A. (2020). Caracterización morfológica de *Akanthomyces lecanii*: Hiperparásito de *Hemileia vastatrix*. *Ciencia Agropecuaria* no. 31:169-181
31. Gómez Gutiérrez, I. A. Félix Hernández, L. M. (2022). Atlas de Hongos Filamentosos y Levaduriformes. 4IM3 Sección II. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
32. Houbroken, J., Frisvad, J. C., Samson, R. A. (2011). *Taxonomy of Penicillium section Chrysogena*. *Studies in Mycology*, 70, 117–151.
33. Hulvey, J., Bussell, J. O., Grigoriev, I. V. (2019). *The importance of fungi and mycology for addressing major global challenges*. *Fungal Biology Reviews*, 33, 1–18.
34. Humber, R. A. (1997). Fungi: Preservation of cultures. In L. A. Lacey (Ed.), *Manual of techniques in insect pathology* (pp. 269–275).
35. Isma'il, S., Ali Deba, F., Auwal Ladan, M., Nuru Yakubu, M., Sa'id Haruna, U., Aliyu, H., Abdulhameed, A., Tahir, F. (2023). In vitro pathogenicity of *Akanthomyces lecanii* and *Metarhizium anisopliae* against the legume aphid *Aphis craccivora*. *Anales de Biología*, 45, Art. 11. <https://doi.org/10.6018/analesbio.45.11>
36. Kepler, R. M., Luangsa-ard, J. J., Hywel-Jones, N. L., Quandt, C. A., Sung, G. H., Rehner, S. A., Spatafora, J. W. (2017). *A phylogenetically-based revision of Cordycipitaceae*. *Studies in Mycology*, 86, 1–46.
37. Keighley, C., Kim, H. Y., Kidd, S., Chen, S. C., Alastruey, A., Dao, A., Bongomin, F., Chiller, T., Wahyuningsih, R., Forastiero, A., Al-Nuseirat, A., Beyer, P., Gigante, V., Beardsley, J., Sati, H., Morrissey, C. O., Alffenaar, J. W. (2024). *Candida tropicalis* - Una revisión sistemática para informar a la Organización Mundial de la Salud sobre una lista de patógenos prioritarios fúngicos. *Micología médica*, 62(6), myae040. <https://doi.org/10.1093/mmy/myae040>
38. Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., y Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). CABI Publishing.
39. Kurtzman, C. P., Fell, J. W., Boekhout, T. (2011). *The yeasts: A taxonomic study* (5th ed.). Elsevier.
40. Larone, D. H. (2018). *Medically Important Fungi: A Guide to Identification* (6th ed.). ASM Press.
41. Leslie, J. F., y Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing.
42. Li, H., Guo, M., Wang, C., Li, Y., Fernandez, A. M., Ferraro, T. N., Yang, R., Chen, Y. (2020). Epidemiological study of *Trichosporon asahii* infections over the past 23 years. *Epidemiology and infection*, 148, e169. <https://doi.org/10.1017/S0950268820001624>
43. Medvedeff, M., Chade, M., Mereles, B., Vedoya, M. (2008). Curso básico identificación de hongos levaduriformes de interés médico. 1a Ed. Posadas: EdUNaM. Editorial Universitaria de la Universidad Nacional de Misiones, 76 p. ISBN 978-950-579-112-5
44. Méndez-González, J. F. (2022). Producción de conidios de *Metarhizium robertsii* en biorreactores de fermentación en medio sólido de escala laboratorio a piloto. Tesis de posgrado. UAM Iztapalapa.

45. Merheb, M., Matar, R., Paul Raj, J., Hodeify, R., Vazhappilly, C. (2022). *Assessment of simple methods to preserve pure cultures of Aspergillus versicolor and Aspergillus niger*. Research Journal of Biotechnology, 17(7), 65–67. <https://doi.org/10.25303/1707rjbt65067>
46. Mesquita, E., Hu, S., Lima, T., Golo, P., Bidochka, M. (2023). Utilización de Metarhizium como agente de biocontrol de insectos y bioinoculante de plantas con especial referencia a Brasi. *Frontiers. Artículo de revisión en* <https://doi.org/10.3389/ffunb.2023.1276287>
47. Mousa, W. K., y Raizada, M. N. (2013). *The diversity of anti-microbial secondary metabolites produced by fungal endophytes: a potential application in drug discovery*. *Frontiers in Microbiology*, 4, 65.
48. Nasim, G., Khokhar, I. (2012). Preservation of Penicillium species by lyophilization. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 12(7), Article 51. <https://doi.org/10.18697/ajfand.51.10255>
49. Nava-Trejo, M. (2022). Modo de acción de *Isaria fomesorosea* como microinsecticida sobre plagas de importancia económica. *Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Tesis de licenciatura*.
50. Navarro-Barranco, H., Brunner-Mendoza, C., del Rocío Reyes-Montes, M., Duarte-Escalante, E., Toriello, C. (2019). Análisis fenotípico y molecular de cepas mexicanas de *Metarhizium anisopliae*. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 90 (2019): e902643. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2643>
51. Nishihara, H. (2005). *Melanin biosynthesis in Alternaria species: potential industrial applications*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67(4), 506–512.
52. O'Donnell, K. (2015). Modern fungal phylogenetics and identification using multi-locus DNA sequence data. *Annual Review of Phytopathology*, 53, 391–415.
53. Panizo, M. M., Reviákina, V., Montes, W., González, G. (2005). Mantenimiento y preservación de hongos en agua destilada y aceite mineral. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(1), 35–40.
54. Perkins, D. D. (1962). *The preservation of Neurospora stock cultures with silica gel*. *Canadian Journal of Microbiology*, 8(4), 591–594.
55. Pitt, J. I. y Hocking, A. D. (2009). *Fungi and food spoilage* (3rd ed.). Springer.
56. Portillo, G. (2015). *Aspergillus niger*: Características, ciclo de vida y afección en plantas. *JardineriaOn*. Disponible en: <https://www.jardineriaon.com/aspergillus-niger.html>
57. Purnima, D. Binit, B. Priyanka, S. Lakshmi, H. Kewal, S. Arumugam, M. Robin, B. Ratna, K. Trishnamoni, G. (2022). Molecular characterization of an *Isaria fumosorosea* (Wize) native strain, and its pathogenicity on *Eublemma amabilis* (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 32. DOI:10.1186/s41938-022-00624-5.
58. Ryan, M. J., y Smith, D. (2014). Fungal preservation: progress and prospects. *Fungal Biology Reviews*, 28(2–3), 53–61.
59. Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H., Frisvad, J. C. (2014). *Phylogeny, identification and nomenclature of the genus Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78, 141–173.
60. Smith, D., y Ryan, M. J. (2012). *The Mycota XIX: Maintenance and Preservation of Fungi*. Springer.

61. Sugita, T., Nakase, T., Ikeda, R., Shinoda, T. (2002). *Sequence analysis of the ribosomal DNA intergenic spacer 1 regions of Trichosporon species*. Journal of Clinical Microbiology, 40(5), 1826–1830.
62. Tariq, A. (2015). Long-term and least expensive preservation methods for various fungal cultures. *Pakistan Journal of Psychological Research*, 27(1), 147–151.
63. The University of Adelayde, Micology. (2025). Mycology. Disponible en: [Micología | Universidad de Adelaida](#)
64. Vallejos, M. E., Chade, M., Medvedeff, M. G., Area, M. C., y Felissia, F. E. (2013). Producción biotecnológica de xilitol utilizando *Candida guilliermondii* y *Candida tropicalis*. En *Actas de las Jornadas Científico-Tecnológicas de la Universidad Nacional de Misiones*. Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Argentina.
65. Vargas-Torrico, M. F., von Borries-Medrano, E., Aguilar-Moreno, G. S., Mata-Villanueva, R. A. (2025). *Aspergillus niger*, ¿un microorganismo destructor o creador?. *De la probeta al reactor. Núm. 17 (2025): De raíces a horizontes: El impacto de las migraciones*.
66. Weng, Q., Zhang, X., Chen, W., Hu, Q. (2019). Secondary Metabolites and the Risks of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinosa*. *Molecules* (Basel, Switzerland), 24(4), 664. <https://doi.org/10.3390/molecules24040664>
67. White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315–322). Academic Press.
68. Woudenberg, J. H. C., Seidl, M. F., Groenewald, J. Z., de Vries, M., Crous, P. W. (2015). *Alternaria section Alternaria: Species, formae speciales or pathotypes?* *Studies in Mycology*, 82, 1–21.
69. Xu, X., Xia, L., Zhu, W., Zhang, Z., Huang, Q., Chen, W. (2015). Papel de *Penicillium chrysogenum* XJ-1 en la desintoxicación y biorremediación del cadmio. *Microbiotecnología. Vol, 6*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01422>
70. Yong Joo C., Haykal-Coates, N., Viana, M E., Copeland, L., Vesper, S J., Selgrade, M. K., Marsha D.W. (2005). Dose-dependent allergic responses to an extract of *Penicillium chrysogenum* in BALB/c mice. *Toxicology, Volume 209, Issue 1, pp 77-89*. ISSN 0300-483X, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.12.010>.
71. Zare, R., Gams, W. (2001). *A revision of Verticillium section Prostrata. IV. The genera Lecanicillium and Simplicillium*. *Nova Hedwigia*, 73(1–2), 1–50.

ANEXO 1

Medios

APD

El medio de APD se preparó de la siguiente manera:

1. Preparación del extracto de papa:
Tras lavar y pelar papas, se hierven en agua destilada y se filtra el líquido.
2. Mezcla de ingredientes:
El agregado agar-agar y dextrosa al líquido filtrado depende de la cantidad requerida. En el caso de 500 mL líquido filtrado (extracto de papa) se añaden 10 g de Dextrosa

y 7.5 g de Agar (ambos compuestos son de la marca BIOXON, México), resultando en aproximadamente 20 cajas de petri grandes. Posterior al añadido y mezclado, se coloca en el autoclave a 121°C durante 15 minutos.

3. Enfriamiento y esterilización:

Dejar enfriar hasta 40-45 °C.

4. Ajuste de Ph:

Antes de colocar el contenido en cajas Petri estériles, se ajusta a un Ph de 3.5 +/- 0.2, agregando 14 mL de una solución estéril de ácido tartárico al 10%.

Agar Sabouraud

El medio de SDA se preparó de la siguiente manera:

1. Mezcla de ingredientes: Disolver 65 g de medio deshidratado (Agar Dextrosa Sabouraud, BIOXON, México) en 1 L de agua destilada, dejando remojar de 10 a 15 min, posteriormente mezclando hasta obtener una suspensión uniforme. Luego se calienta y hierve durante 1 min.
2. Distribuir y esterilizar a 118-121°C durante 16 minutos.

YPG

El medio de APD se preparó de la siguiente manera:

1. Disolver los componentes:
Mezcla los ingredientes en agua destilada, en el caso de 1 L de agua destilada se añaden 40 g de Glucosa, 10 g de Peptona Biotriptasa (ambos compuestos son de BIOXON, México) y 10 g de extracto de levadura.
2. Esterilizar el medio:
Lleva a esterilizar el medio en autoclave a 121°C durante 15-20 min.
3. Distribuir el medio:
Vierte el medio esterilizado en Matraz Erlenmeyer, 100 mL para un matraz de 250 mL o 200 mL para un matraz de 500 mL.

ANEXO 2

Alternaria alternata

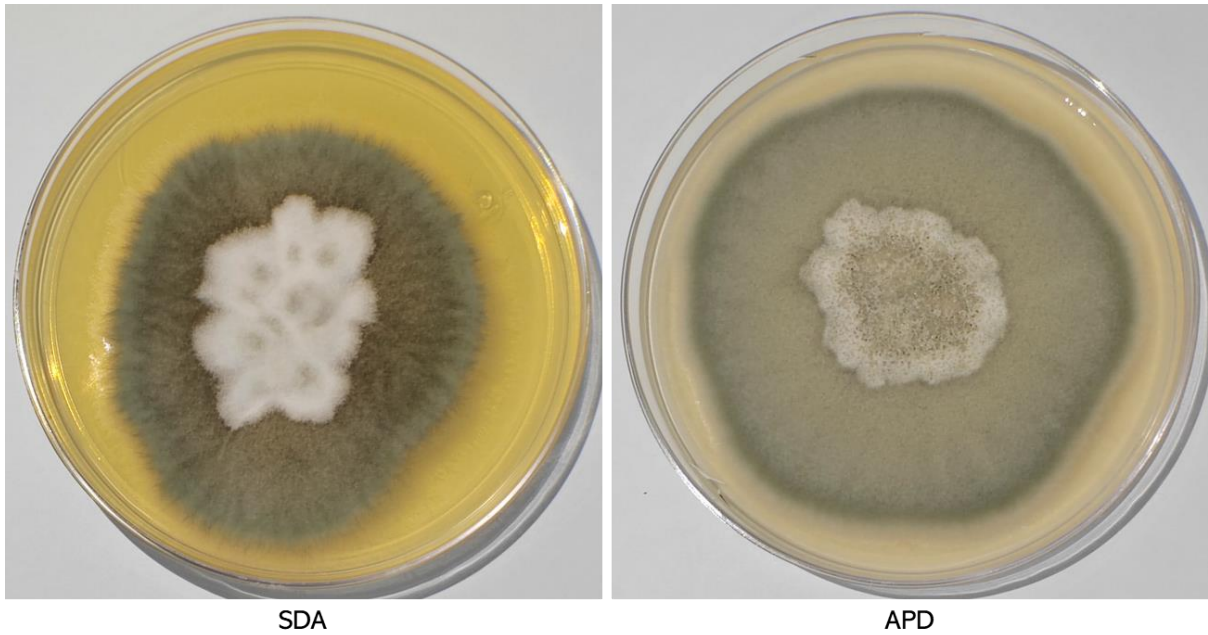


Figura 24. Crecimiento de *Alternaria alternata* a 28 ° C.

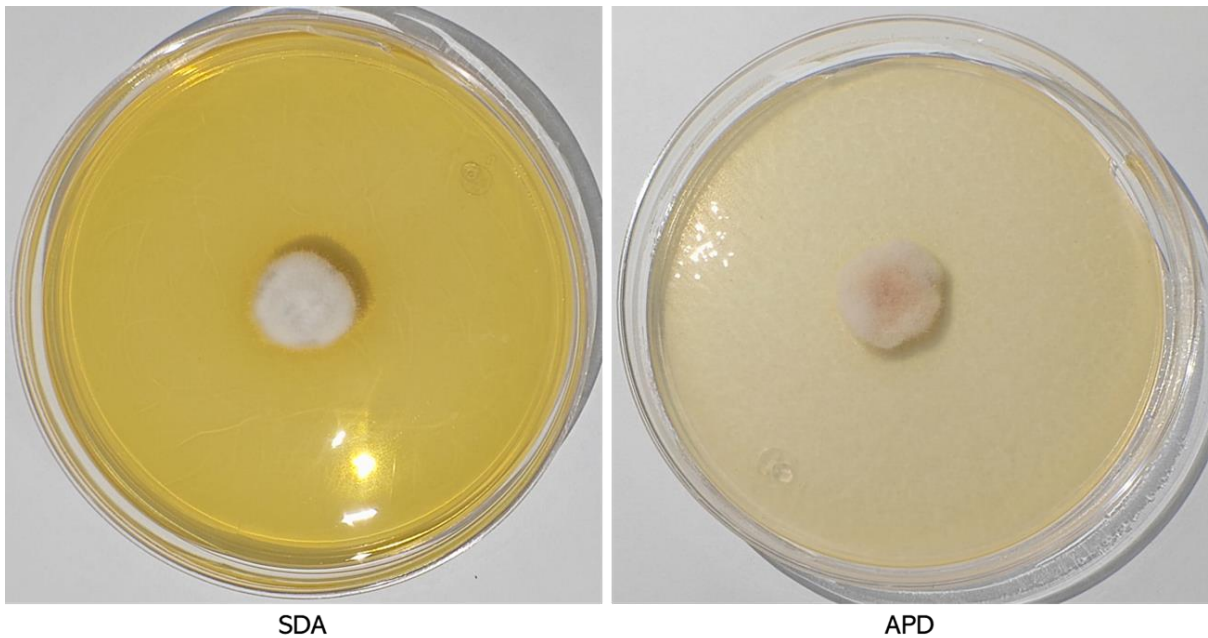
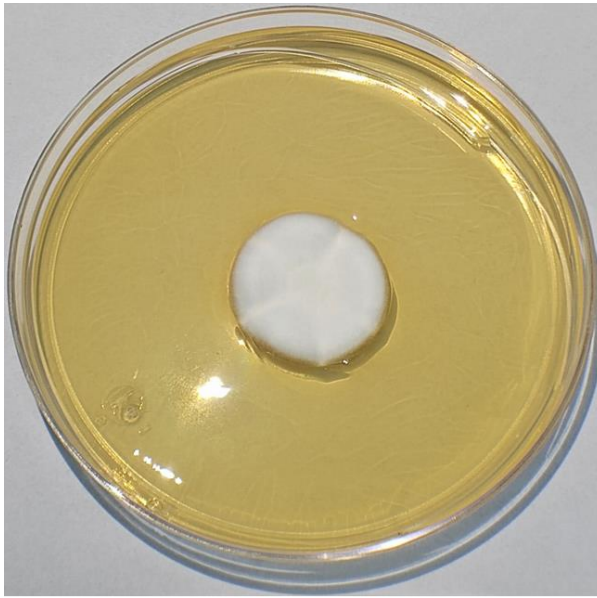
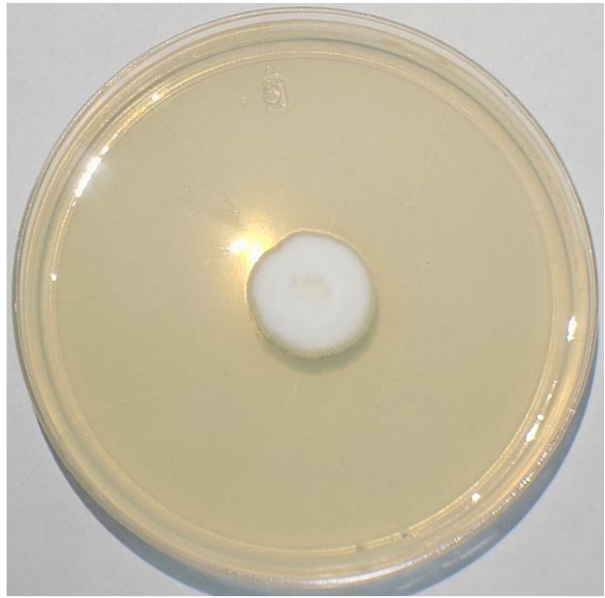


Figura 25. Crecimiento de *Alternaria alternata* a 37 ° C.

Akanthomyces lecanii

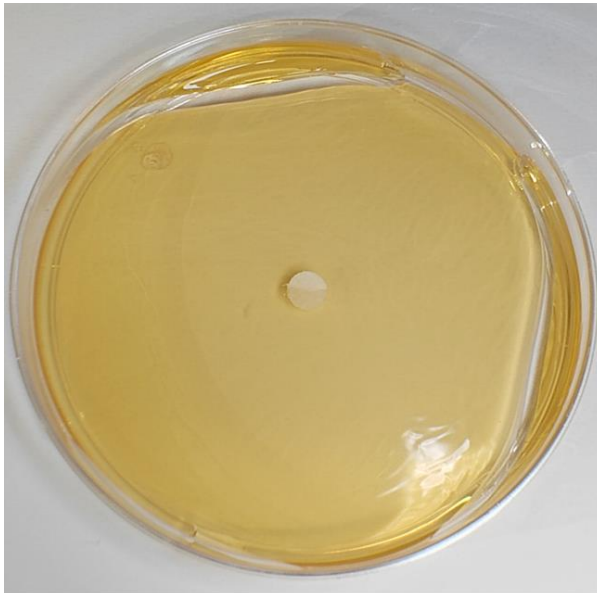


SDA

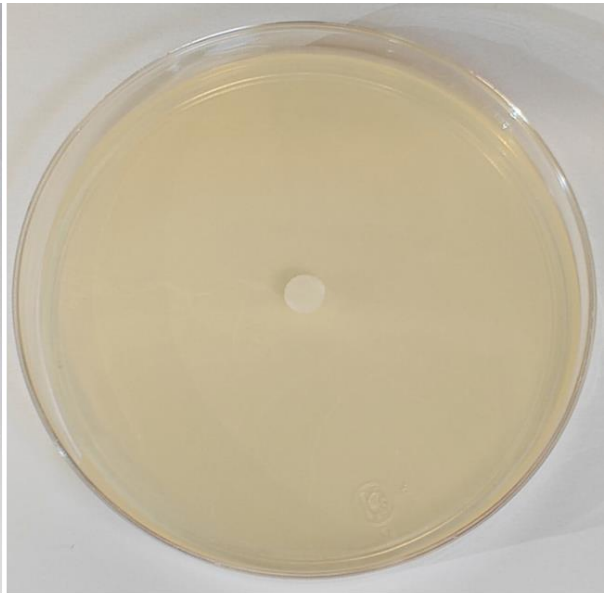


APD

Figura 26. Crecimiento de *Akanthomyces lecanii* a 28 ° C.



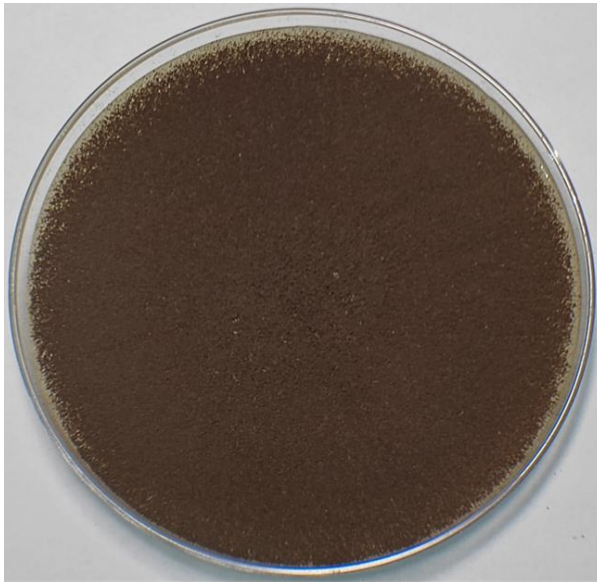
SDA



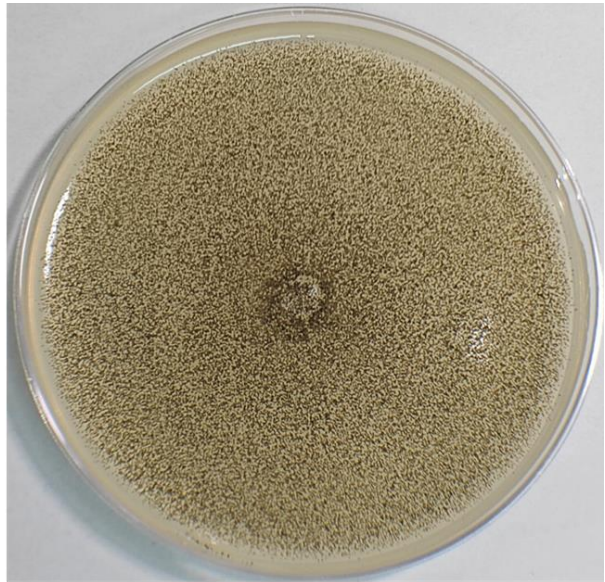
APD

Figura 27. Crecimiento de *Akanthomyces lecanii* a 37 ° C.

Aspergillus niger



SDA

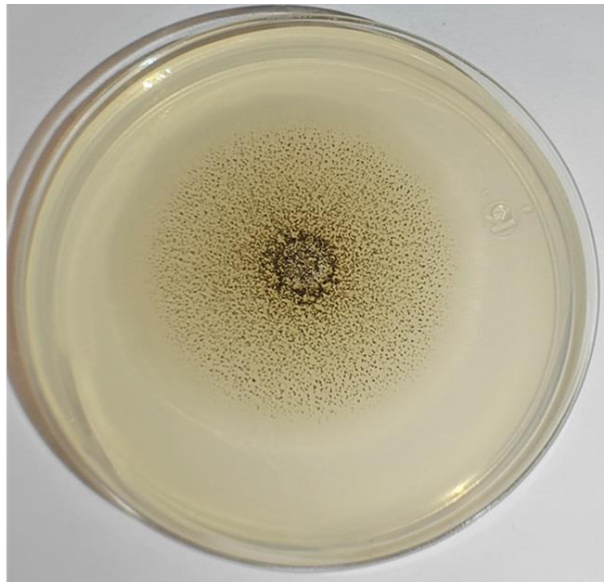


APD

Figura 28. Crecimiento de *Aspergillus niger* a 28 ° C.



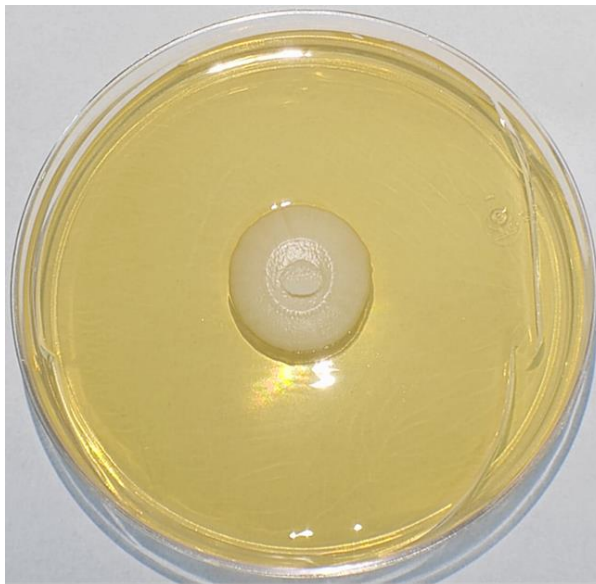
SDA



APD

Figura 29. Crecimiento de *Aspergillus niger* a 37 ° C.

Candida tropicalis

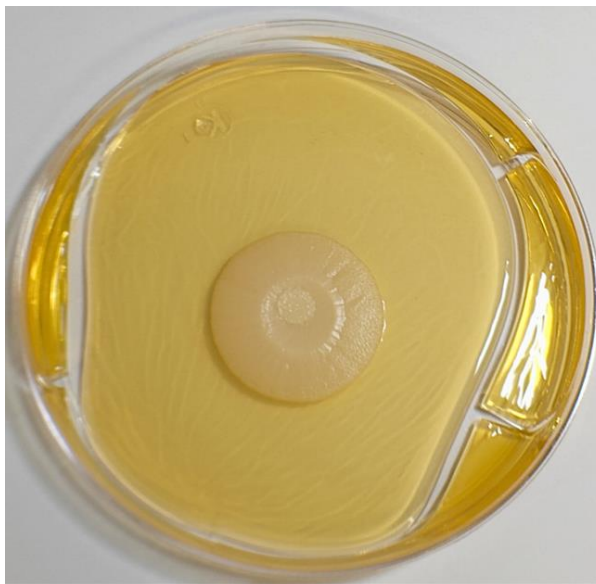


SDA

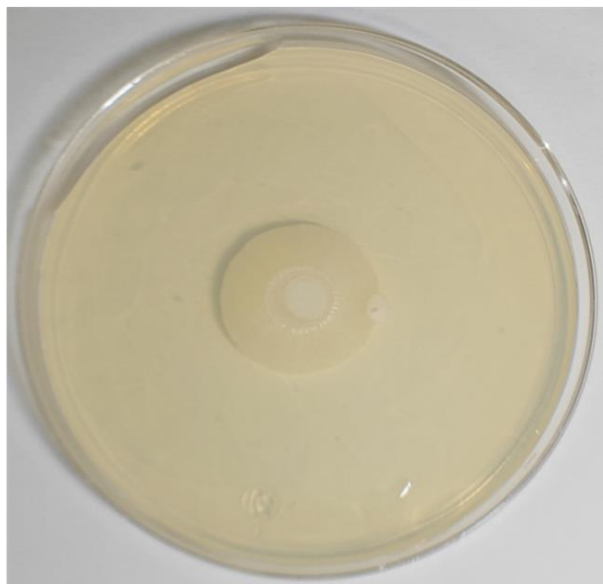


APD

Figura 30. Crecimiento de *Candida tropicalis* a 28 ° C.



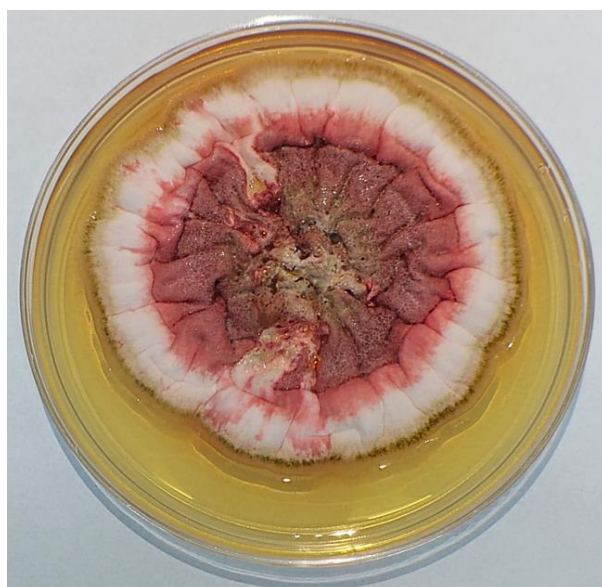
SDA



APD

Figura 31. Crecimiento de *Candida tropicalis* a 37 ° C.

Epicoccum nigrum

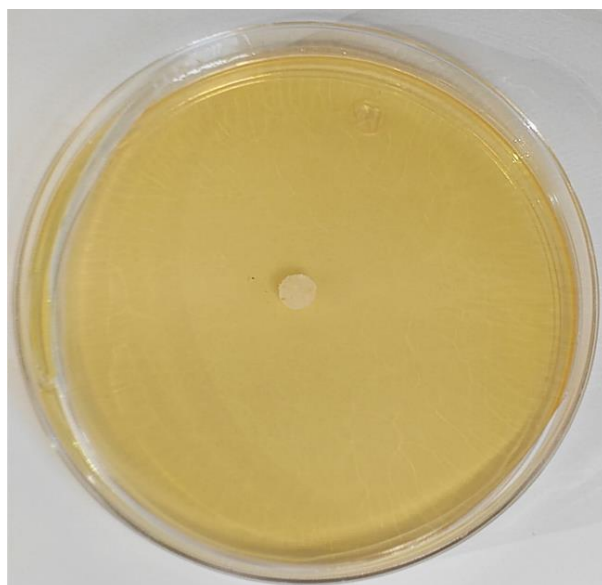


SDA

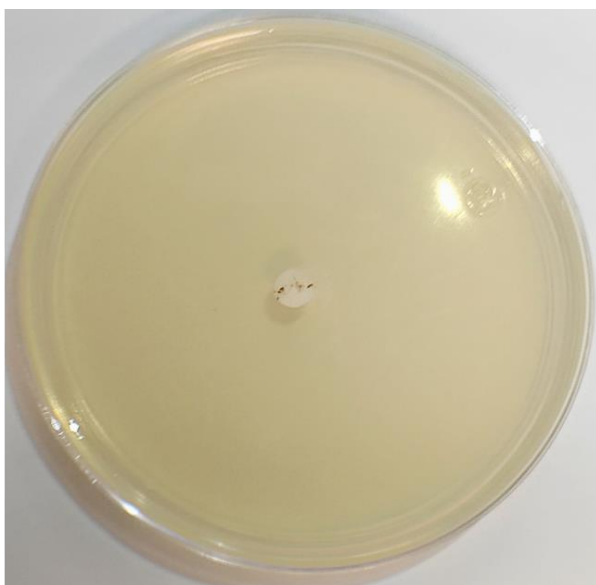


APD

Figura 32. Crecimiento de *Epicoccum nigrum* a 28 ° C.



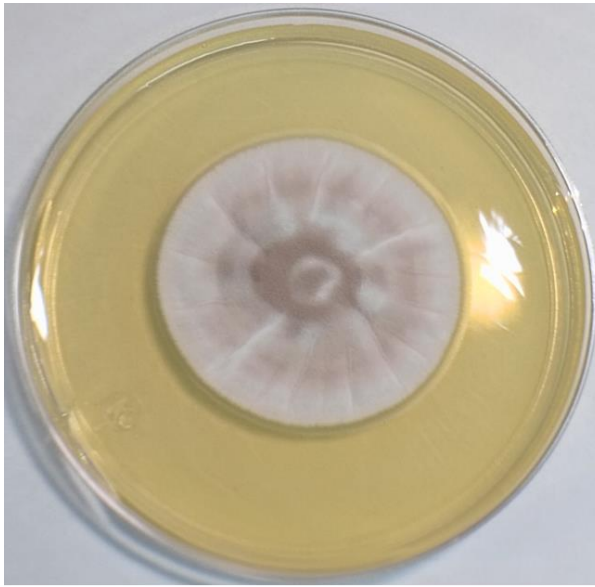
SDA



APD

Figura 33. Crecimiento de *Epicoccum nigrum* a 37 ° C.

Isaria fumosorosea

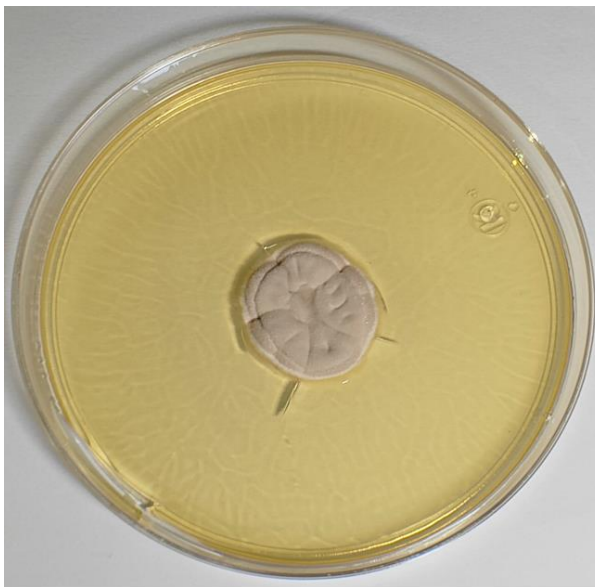


SDA

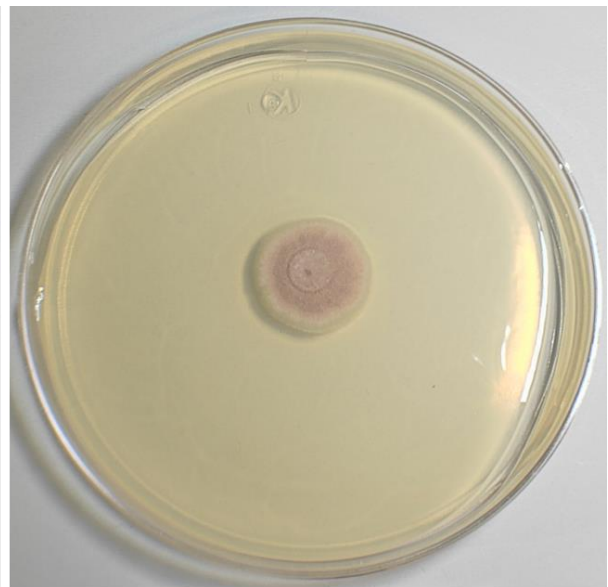


APD

Figura 34. Crecimiento de *Isaria fumosorosea* a 28 ° C.



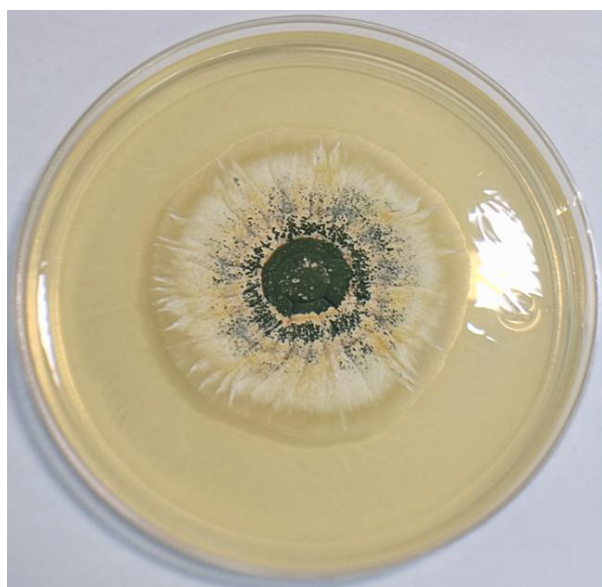
SDA



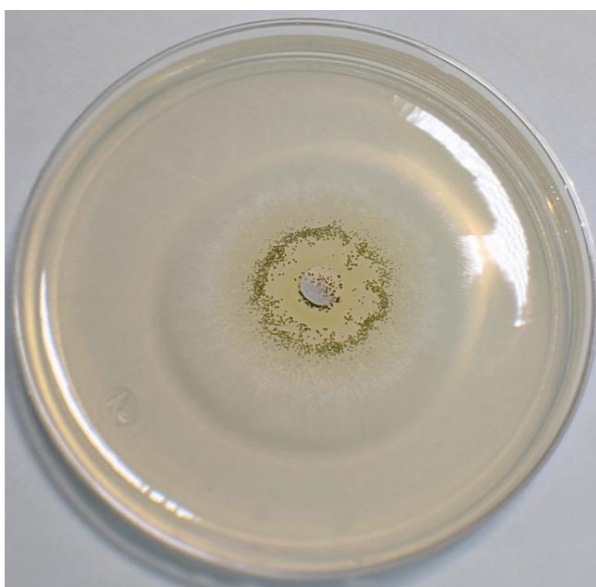
APD

Figura 35. Crecimiento de *Isaria fumosorosea* a 37 ° C.

Metarhizium robertsii



SDA

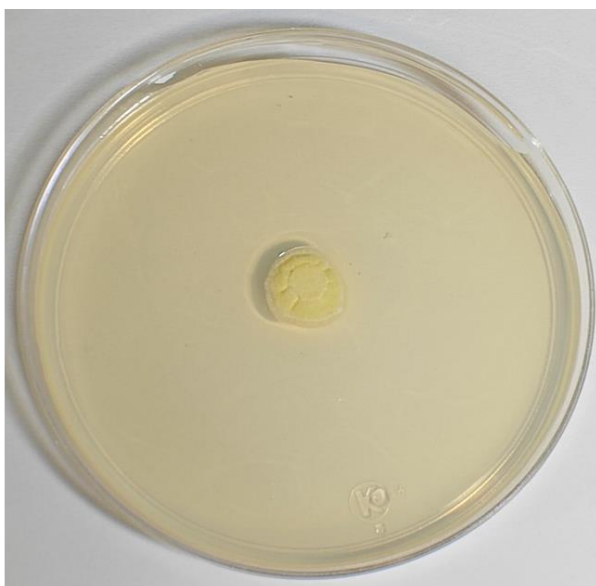


APD

Figura 36. Crecimiento de *Metarhizium robertsii* a 28 ° C.



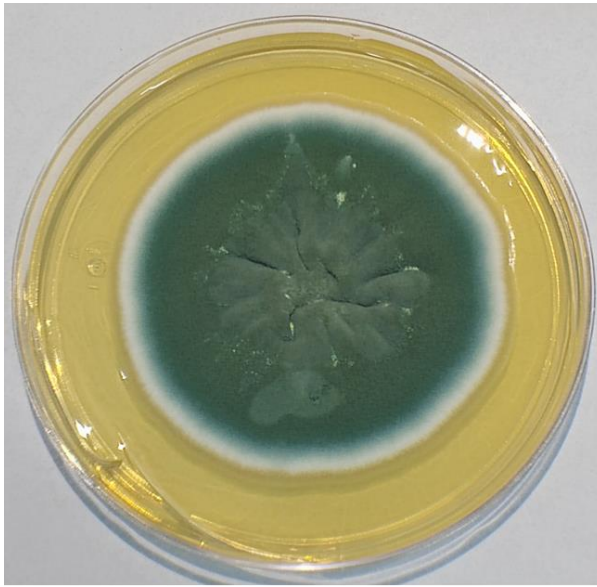
SDA



APD

Figura 37. Crecimiento de *Metarhizium robertsii* a 37 ° C.

Penicillium chrysogenum



SDA

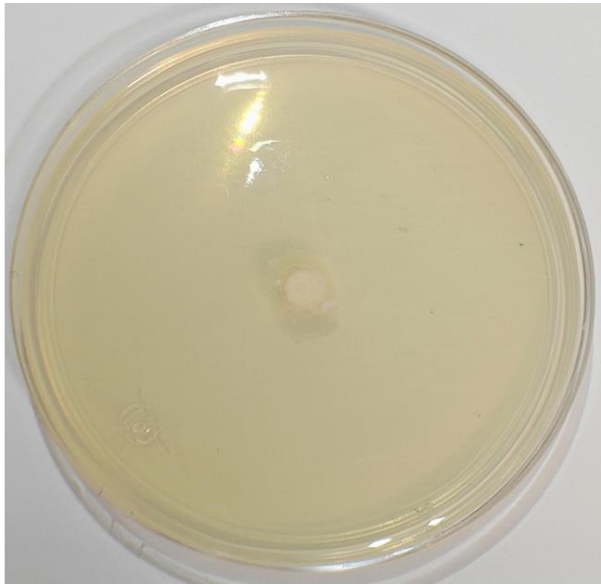


APD

Figura 38. Crecimiento de *Penicillium chrysogenum* a 28 ° C.



SDA



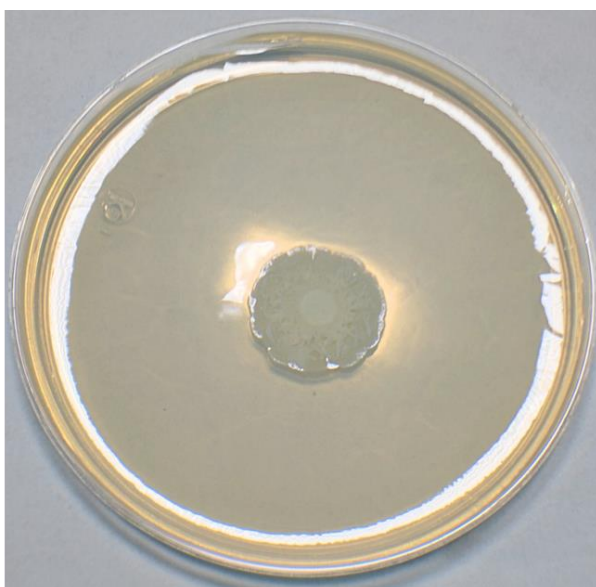
APD

Figura 39. Crecimiento de *Penicillium chrysogenum* a 37 ° C.

Trichosporon asahii

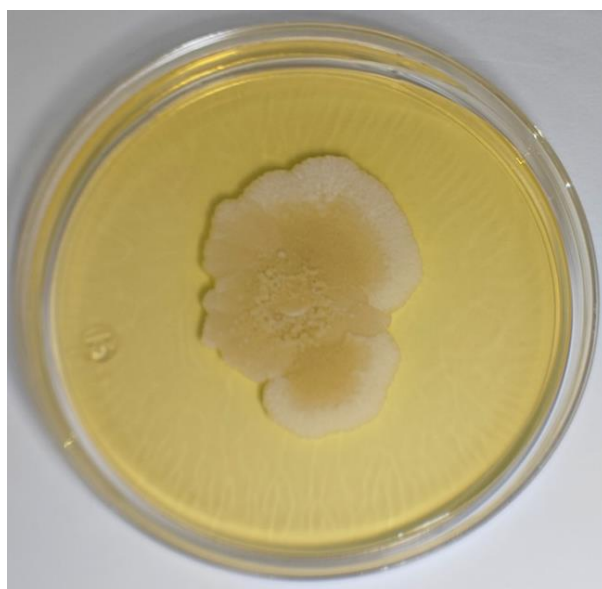


SDA

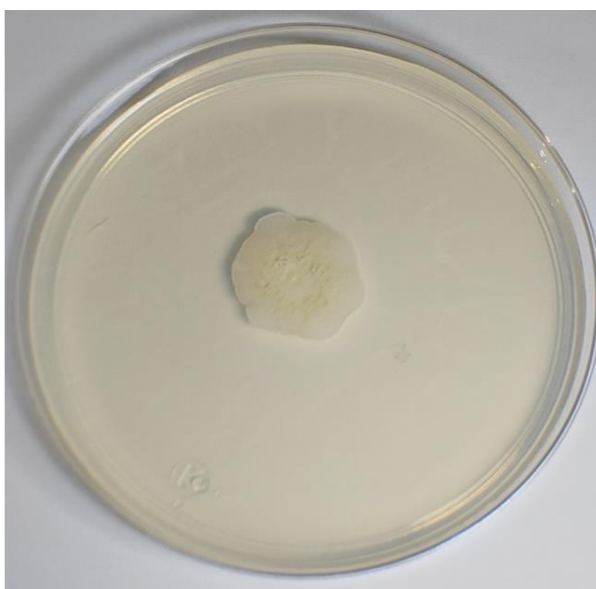


APD

Figura 40. Crecimiento de *Trichosporon asahii* a 28 ° C.



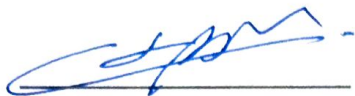
SDA



APD

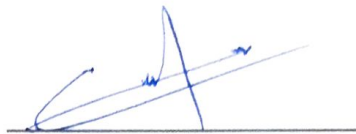
Figura 41. Crecimiento de *Trichosporon asahii* a 37 ° C.

8.- Visto Bueno de Asesores



Asesor externo

Dra. Carolina Angélica Brunner Mendoza
Número de cédula: 11292880
Departamento de Microbiología y Parasitología,
Facultad de Medicina, UNAM



Asesor interno

M en EA. Ezel Jacome Galindo Pérez
No. Eco. 44093
Depto. El Hombre y su Ambiente
Universidad Autónoma
Metropolitana-Xochimilco