

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**DETECCIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE HONGOS FILAMENTOSOS
DE IMPORTANCIA MÉDICA AISLADOS DE MUESTRAS DE AIRE DE 12 SITIOS
DE LA BAHÍA DE PANAMÁ**

**ELABORADO POR:
JOSELLI MARÍA FOSSATTI CONCEPCIÓN
CIP 8-973-1555**

Trabajo de grado sometido a consideración por la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología, como requisito para optar por el título de Licenciada en Biología con especialización en Microbiología y Parasitología.

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ
2025

ÍNDICE

Dedicatoria.....	7
Agradecimientos	8
RESUMEN	9
ABSTRACT.....	9
INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVOS.....	13
HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	13
MARCO TEÓRICO	15
1.1 Los hongos	15
1.2 Hongos filamentosos	16
1.2.1 Nutrición	17
1.2.2 Crecimiento	18
1.2.3 Reproducción	20
1.2.3.1 Reproducción asexual	21
1.2.3.2 Reproducción sexual	24
1.3 Diversidad de los hongos.....	29
1.4 Taxonomía de los hongos y métodos de identificación	30
1.4.1 Métodos convencionales	31
1.4.2 Métodos moleculares.....	32
1.5 Hongos filamentosos como agentes causantes de enfermedades.....	33
1.5.1 Hongos filamentosos patógenos del aire	34
1.6 Géneros de importancia médica	34
METODOLOGÍA	40
2.1 Procedencia de las muestras y diseño experimental.....	40
2.2 Preparación de medios	41
2.3 Reactivación de cepas fúngicas almacenadas.....	42
2.4 Identificación morfológica.....	42
2.5 Identificación molecular.....	43
2.6 Secuenciación de productos de PCR.....	46
2.7 Construcción de árboles filogenéticos.....	46
RESULTADOS.....	48
3.1 Identificación morfológica.....	48
3.1.1 Identificación por características macroscópicas	48

3.1.2 Identificación por características microscópicas	58
3.2 Identificación molecular.....	65
3.2.1 Extracción de ADN genómico	67
3.2.3 Amplificación por PCR punto final.....	67
3.3 Análisis filogenético	68
3.4 Discusión	77
4.1 Conclusiones	89
4.2 Recomendaciones	90
Referencias bibliográficas	91
Anexos.....	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hifas en hongos filamentosos.	16
Figura 2. Crecimiento vegetativo.	18
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Aspergillus nidulans</i>	20
Figura 4. Esquema y microscopías de distintos tipos de conidióforos en hongos filamentosos.	22
Figura 5. Estructuras características de la reproducción asexual en hongos.	23
Figura 6. Tipos de ascocarpos en la reproducción asexual.	27
Figura 7. Relaciones evolutivas en eucariotas.	29
Figura 8. Estimación en el número global de especies fúngicas	30
Figura 9. Sitios de Muestreo	40
Figura 10. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas de hongos aislados provenientes de bioaerosoles de la Bahía de Panamá.	48
Figura 11. Tasa de crecimiento de las cepas	49
Figura 12. Tasa de crecimiento lento	49
Figura 13. Tasa de crecimiento lento.	50
Figura 14. Micelio aéreo.	50
Figura 15. Textura de las colonias	51
Figura 16. Tinción del medio	51
Figura 17. Presencia de exudados	52
Figura 18. Morfología macroscópica de las cepas de hongos estudiados	53
Figura 19. Características microscópicas de las hifas	58
Figura 20. Características microscópicas de los conidióforos	59
Figura 21. Características microscópicas de las conidias	59
Figura 22. Características microscópicas de estructuras de interés	60
Figura 23. Morfología microscópica de las cepas de hongos estudiados	60
Figura 24. Análisis de electroforesis en gel agarosa al 0.7% de los ADNg extraídos para verificar la cantidad, pureza e integridad	67
Figura 25. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4	67
Figura 26. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores CLA-F y CLA-R.	68
Figura 27. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU, <i>Trichoderma</i>	69
Figura 28. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU, <i>Allophoma</i>	70

Figura 29. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU, <i>Fusarium</i>	70
Figura 30. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU, <i>Phaeosphaeria</i>	71
Figura 31. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU, <i>Talaromyces</i>	71
Figura 32. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS, <i>Penicillium</i> y <i>Aspergillus</i>	72
Figura 33. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región LSU, <i>Penicillium</i> y <i>Aspergillus</i>	73
Figura 34. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS, <i>Cladosporium</i>	74
Figura 35. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región LSU, <i>Cladosporium</i>	75
Figura 36. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS, <i>Pyrenochaetopsis</i>	76
Figura 37. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS, <i>Diaporthe</i>	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Detalle de las características y condiciones ambientales de los 12 sitios de muestreo.	41
Tabla 2. Preparación de las muestras cargadas con electroforesis en gel de agarosa al 0,7% para muestras de ADNg.	44
Tabla 3. Cebadores utilizados para la amplificación y secuenciación.	44
Tabla 4. Reactivos, concentración y cantidades utilizadas para realizar la amplificación de ADNg mediante PCR punto final.	45
Tabla 5. Programas utilizados para la amplificación.	45
Tabla 6. Preparación de las muestras cargadas con electroforesis en gel de agarosa al 0,7% para muestras de productos de PCR.	46
Tabla 7. Caracterización macroscópica de 27 cepas fúngicas aisladas del aire	52
Tabla 8. Descripción de las características morfológicas de las cepas de hongos estudiados.	53
Tabla 9. Descripción de las características microscópicas de las cepas de hongos estudiados.	62
Tabla 10. Identificación taxonómica de las cepas estudiadas.	65

Dedicatoria

Primeramente, deseo dedicar este trabajo de graduación a mi mamá, Rosana Concepción, quien ha sido mi pilar, mi mayor apoyo y mi principal fuente de inspiración a lo largo de toda mi vida. Gracias por cada sacrificio, por su esfuerzo constante para darme la mejor educación posible, por su dedicación y por acompañarme incondicionalmente en cada etapa de mi vida. Sin usted, no sería la persona que soy hoy ni habría llegado hasta aquí.

A mis asesores, quienes confiaron en mí desde el inicio para el desarrollo de esta investigación y me brindaron su guía, dedicación y valioso acompañamiento a lo largo de todo el proceso.

A mis mejores amigos Karian, Fabián y Laís, quienes estuvieron presentes desde el primer día, fueron mi consuelo en los momentos más difíciles y estuvieron como apoyo incondicional en todo este proceso.

Por último, a las amigas que me regaló la carrera. Nicole, Daniela, Luz y Anais. Ustedes hicieron de este camino algo más bonito, me brindaron su tiempo, consejos, una amistad genuina, y más que nada su apoyo incondicional, con lo que siempre estaré agradecida.

Agradecimientos

Al Centro de Investigación e Información de Medicamentos y Tóxicos (CIIMET), dirigido por la Mgtr. Hildaura Acosta de Patiño, de la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá.

Este proyecto se enmarca dentro del megaproyecto titulado “*Detección Molecular y Análisis Filogenético de Virus, Bacteriófagos, Bacterias, Hongos Filamentosos y Parásitos Patógenos en Aire y Agua provenientes de la Bahía de Panamá*”, financiado por el Fondo de Agua, Áreas Protegidas y Vida Silvestre, bajo la dirección de los Dr. Alex O. Martínez Torres y Dr. Jordi Querol-Audi. Asimismo, contó con el apoyo de la Convocatoria Universitaria de Fondos para la Investigación (CUFI-2024) de la Universidad de Panamá, bajo el código VIP-040201-2025-040, a través de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado.

Expreso mis más sinceros agradecimientos a la Dra. Gesabel Navarro-Velasco, quien no solo me abrió las puertas del laboratorio, sino que también me brindó su apoyo y guía incondicional. Su dedicación y orientación como asesora fueron un pilar fundamental para el desarrollo de mi tesis. Agradezco profundamente su paciencia, confianza y motivación a lo largo de todo este proceso.

Al Mgtr. Fermín Mejía, quien fue un apoyo constante durante este proceso, sus consejos y guía contribuyeron significativamente no solo a este trabajo, sino también a mi desarrollo profesional. Muchas gracias por su tiempo y dedicación.

Agradezco a la Mgtr. Ariadna Bethancourt, cuyas clases de micología fueron una fuente de inspiración y el impulso para orientarme en la investigación de los hongos. Valoro su tiempo, dedicación y consejos, los cuales fortalecieron mis conocimientos y mi formación profesional.

Quiero agradecer al Dr. Celestino Aguilar, cuya ayuda fue fundamental para el desarrollo de este trabajo. Estoy profundamente agradecida por su tiempo, paciencia y disposición, sin duda, todas sus enseñanzas fueron de gran aporte a mi formación académica.

Por último, expreso mi más sincero agradecimiento a Carolina Guevara y a mis compañeras de laboratorio Stephanie Blake, Nayeli Pineda, Karina Li, María Borraez y Angie Moreno, quienes me brindaron su apoyo incondicional, su valiosa compañía y consejos a lo largo de todo mi proceso de investigación.

RESUMEN

Los hongos filamentosos son microorganismos eucariotas ampliamente distribuidos en el ambiente cuyas esporas pueden dispersarse mediante bioaerosoles, representando un potencial riesgo para la salud humana. El objetivo de este estudio fue detectar e identificar, mediante enfoques morfológicos y moleculares, hongos filamentosos de importancia médica presentes en muestras de aire de la Bahía de Panamá. El muestreo ambiental se realizó en 12 sitios mediante métodos de captación de bioaerosoles, seguido del aislamiento y cultivo de las cepas fúngicas en medios selectivos. La caracterización morfológica incluyó la evaluación macroscópica de las colonias y el análisis microscópico de estructuras reproductivas. Para la identificación molecular, se extrajo ADN genómico y se amplificaron las regiones ITS y LSU del ADN mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los productos amplificados fueron secuenciados y analizados mediante comparaciones en bases de datos y reconstrucciones filogenéticas. Los resultados permitieron identificar diversos géneros de hongos filamentosos, entre ellos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp, *Cladosporium* spp., *Talaromyces* sp., *Diaporthe* sp. y *Pyrenochaetopsis* sp., varios de los cuales incluyen especies asociadas a infecciones oportunistas en humanos. En general, se observó concordancia entre la identificación morfológica y molecular; sin embargo, algunos aislamientos requirieron el uso de múltiples marcadores para lograr una resolución taxonómica adecuada. Este estudio constituye uno de los primeros reportes en la Bahía de Panamá que integra herramientas morfológicas y moleculares para la caracterización de hongos filamentosos en bioaerosoles, aportando información relevante para la vigilancia ambiental y la evaluación del riesgo sanitario.

Palabras clave: ADN genómico, análisis filogenético, bioaerosoles, hongos filamentosos, patógeno, PCR.

ABSTRACT

Filamentous fungi are eukaryotic microorganisms widely distributed in the environment whose spores can be dispersed through bioaerosols, representing a potential risk to human health. The aim of this study was to detect and identify, using morphological and molecular approaches, filamentous fungi of medical importance present in air samples from the Panama Bay. Environmental sampling was conducted at 12 sites using bioaerosol collection methods, followed by the isolation and cultivation of fungal strains on selective media. Morphological characterization included macroscopic evaluation of colony features and microscopic analysis of reproductive structures. For molecular identification,

genomic DNA was extracted and the ITS and LSU regions were amplified by polymerase chain reaction (PCR). The amplified products were sequenced and analyzed through database comparisons and phylogenetic reconstructions. The results allowed the identification of several genera of filamentous fungi, including *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp, *Cladosporium* spp., *Talaromyces* sp., *Diaporthe* sp. and *Pyrenochaetopsis* sp., many of which comprise species associated with opportunistic infections in humans. Overall, concordance between morphological and molecular identification was observed; however, some isolates required the use of multiple molecular markers to achieve adequate taxonomic resolution. This study represents one of the first reports in the Panama Bay integrating morphological and molecular tools for the characterization of filamentous fungi in bioaerosols, providing relevant information for environmental surveillance and health risk assessment.

Key words: bioaerosols, filamentous fungi, genomic DNA, pathogen, PCR, phylogenetic analysis

INTRODUCCIÓN

Cuando los seres humanos inhalan aire se exponen a una alta concentración de células microbianas. Algunas de estas pueden desempeñar un papel como patógenos o inducir reacciones alérgicas (Barberán et al., 2015). En este sentido, el aire puede contener diversos tipos de organismos, incluyendo pequeños insectos y partículas biológicas como el polen. Asimismo, una serie de investigaciones han evidenciado la presencia de bacterias, virus, parásitos y hongos en el aire; a este conjunto de organismos en suspensión son denominados bioaerosoles. Gracias a su reducido tamaño y peso, los bioaerosoles se trasladan con facilidad de un entorno a otro por medio del aire. En años recientes, la exposición a bioaerosoles, tanto en contextos laborales como residenciales, ha generado un creciente interés debido a los potenciales impactos en la salud humana (Kim et al., 2018).

Bajo este contexto, tenemos a los hongos filamentosos, estos son organismos que se encuentran con gran facilidad en el medio ambiente gracias a su alta capacidad de colonización, incluso si se encuentran bajo condiciones ambientales desfavorables. Estos organismos son productores de esporas, las mismas se dispersan a través del aire (Egbuta et al., 2017). Cabe destacar que las esporas producidas son resistentes a la desecación y pueden permanecer en un estado de latencia sobreviviendo durante muchos años (Zukiewicz-Sobczak, 2013).

Distintos estudios indican que las esporas fúngicas, junto con otras partículas biológicas, representan una proporción significativa de la masa del aire en ambientes naturales, selvas tropicales, así como en sitios de alta densidad poblacional (Frölich-Nowoisky et al., 2009). Estas esporas actúan como reservorio para metabolitos secundarios tóxicos, llamados micotoxinas, estas suponen un peligro potencial para la salud humana al ser inhaladas por largos periodos de tiempo (Al-Shaarani y Pecoraro, 2024).

En los últimos años, la atención hacia los contaminantes fúngicos encontrados en bioaerosoles ha aumentado notablemente, en parte debido a la creciente evidencia de los riesgos para la salud que estos suponen, ya sea por las propias esporas o por las micotoxinas que estos organismos liberan en el medio ambiente (Al-Shaarani y Pecoraro, 2024). Desde la década de 1970, se han podido documentar múltiples especies de hongos filamentosos, pertenecientes a distintos géneros, que han sido relacionados a diversas infecciones en órganos internos y externos (Egbuta et al., 2017). Asimismo, durante los últimos veinte años, se ha podido observar un incremento significativo en el número de casos de alergias provocadas por la exposición a mohos.

En personas saludables la exposición prolongada a esporas fúngicas encontradas en el aire puede llegar a ocasionar alergias leves, pero en el caso contrario, las

personas inmunocomprometidas que estén expuestas ante cargas fúngicas altas durante prolongados periodos de tiempo pueden ocasionar infecciones respiratorias con un alto porcentaje de mortalidad (Zukiewicz-Sobczak, 2013).

En el caso de Panamá, una de las zonas con mayor susceptibilidad a la exposición a bioaerosoles es la Bahía de Panamá. Esta área, se extiende desde la desembocadura del Río Tocumen hasta Veracruz, y se adentra aproximadamente 4 km en mar abierto, fue designada como sitio Ramsar en 2003, lo que indica su importancia internacional como humedal. Sin embargo, debido a su proximidad a la Ciudad de Panamá, esta zona ha experimentado una creciente contaminación a lo largo de los años. El aumento de la población ha resultado en un incremento en la descarga de desechos en ríos y quebradas que desembocan directamente en la Bahía, siendo estos desechos, en su mayoría, aguas no tratadas, una de las principales fuentes de enfermedades.

La contaminación en la Bahía de Panamá constituye un desafío crítico para la salud ambiental, que ha sido abordado los últimos años mediante iniciativas como el Saneamiento de la Bahía. Esta región, caracterizada por ser una bahía semicerrada, recibe aguas no tratadas de los ríos Matasnillo, Juan Díaz y Matías Hernández, lo que genera una alta diversidad de microorganismos. Estos contaminantes pueden ser transportados al aire a través de bioaerosoles, exponiéndose a lugares de alto riesgo, como el Hospital Santo Tomás y el Hospital del Niño, así como a sitios de interés social, como la Cinta Costera.

Investigaciones previas, como la de Ballesteros y Espino (2004), han identificado diversos bioaerosoles micóticos en los quirófanos del complejo hospitalario de la Caja del Seguro Social, hallando especies de *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. Por otro lado, el estudio de Gallardo y Griffith (2015) reveló una significativa carga fúngica de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. en la bahía.

Ambos estudios revelaron la presencia de hongos filamentosos que han sido identificados como causantes de infecciones superficiales, así como también infecciones invasivas en individuos inmunocomprometidos (Egbuta et al., 2017). Sin embargo, las investigaciones de Ballesteros y Espino, así como las de Gallardo y Griffith, antes mencionadas carecen de un enfoque molecular que permita identificar con mayor exactitud las especies involucradas en dichos estudios. Por esta razón fue crítico realizar un nuevo estudio del aire de la bahía de Panamá, en donde se integren técnicas de biología molecular que permitan identificar con mayor exactitud las especies de hongos filamentosos encontrados, ya que no solo permitirá enriquecer la base de datos de microorganismos de esta zona, sino también brindaría un nuevo enfoque a la importancia que tienen los hongos filamentosos como agentes causantes de enfermedades.

OBJETIVOS

Objetivo General: Detectar y caracterizar a nivel morfológico y molecular las especies de hongos filamentosos patógenos aislados de muestras de aire provenientes de 12 sitios de la Bahía de Panamá con el fin de evaluar su posible riesgo a la salud pública.

Objetivos Específicos:

- Identificar por medio de características morfológicas los hongos filamentosos aislados de muestras de aire de la Bahía de Panamá.
- Caracterizar a nivel molecular, mediante la amplificación y secuenciación de las regiones conservadas de ITS y la subunidad grande (LSU) los aislados fúngicos a nivel de género y especie.
- Determinar las relaciones filogenéticas entre las especies de hongos filamentosos caracterizados a nivel molecular.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Ha: Se confirma la presencia de hongos filamentosos patógenos aislados de muestras de aire provenientes de 12 sitios de la Bahía de Panamá.

Ho: No se confirma la presencia de hongos filamentosos patógenos aislados de muestras de aire provenientes de 12 sitios de la Bahía de Panamá.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

MARCO TEÓRICO

1.1 Los hongos

Cuando los organismos fueron divididos en el reino animal y vegetal por Linneo en 1735, los hongos fueron incluidos con las plantas. Sin embargo, este sistema de clasificación carecía de un espacio para los organismos unicelulares, por lo que Haeckel en 1866 propuso un tercer reino llamado Protista, para incluir a aquellos organismos unicelulares. Posteriormente, el reino Protista fue dividido en dos grupos: superior e inferior. A partir de esta última división, Copeland en 1938 introdujo al reino Monera, destinado a los organismos unicelulares procariotas.

No fue hasta 1969 con Whittaker, que los hongos fueron considerados como un reino separado. En su esquema de clasificación, basado en cinco reinos, empleó los siguientes criterios: tipo celular (procariota o eucariota), nivel de organización (unicelular o pluricelular), tipo de nutrición (autótrofa o heterótrofa) y modo de reproducción (sexual o asexual). En virtud de estas nuevas consideraciones, se estableció el reino Fungi, que agrupa a los hongos, organismos que se distinguen por su pared celular de quitina, la formación de hifas y micelio, así como por su nutrición heterótrofa, características que los diferencian del reino Plantae, donde habían sido clasificados anteriormente (Dube, 2013). Es así, con la llegada de nuevos avances en la genética y con el desarrollo de la biología molecular, un nuevo sistema de clasificación es propuesto por Woese en 1977, en el que incluye una nueva categoría taxonómica llamada "dominio". En esta nueva clasificación se proponen tres dominios principales: Archaea, Bacteria y Eukarya. Estando el reino Fungi dentro del dominio Eukarya (Medina, 2012).

Si tomamos en cuenta las clasificaciones antiguas, resulta muy complicado estudiar el parentesco evolutivo entre organismos tan distantes como los hongos y los animales. No obstante, gracias a estudios realizados a través del análisis de ácidos nucleicos, se ha demostrado que el reino Fungi está más estrechamente relacionado con los animales que con las plantas (Paterson et al., 2023). La definición científica moderna de los hongos se basa en la información de una variedad de fuentes. Sin embargo, hay tres principales características que unifican a estos organismos: son eucariotas, se alimentan por absorción y se reproducen por medio de la formación de esporas (Money, 2016).

Aunque el reino de los hongos es el menos conocido entre los tres grandes reinos eucarióticos, estos organismos constituyen el segundo grupo más diverso en cuanto a especies, sólo superado por los insectos (Rúa-Giraldo, 2023). En la naturaleza, los hongos juegan un papel fundamental en el reciclaje de energía y nutrientes, además de influir en la composición de las comunidades vegetales a través de relaciones simbióticas (Newbound et al., 2010). Esta influencia, clave para la vida vegetal, se

manifiesta en su interacción como hongos endófitos o micorrizas (Naranjo-Ortiz y Gabaldón, 2019).

Además de su papel crucial como simbioses de las plantas, los hongos pueden actuar como saprófitos o parásitos. Los saprófitos obtienen nutrientes de la materia orgánica en descomposición, mientras que los parásitos extraen nutrientes de un hospedero vivo (Powers-Fletcher et al., 2016). Muchos hongos son aerobios obligados o facultativos y se alimentan mediante un proceso conocido como "osmotrofia". Este mecanismo, propio de los organismos quimiótrofos, implica la secreción de enzimas que descomponen una amplia variedad de sustratos orgánicos en nutrientes solubles, los cuales son capaces de ser absorbidos pasivamente o transportados activamente al interior de la célula (Money, 2016; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

Morfológicamente, los hongos pueden ser unicelulares o pluricelulares, y su forma varía dependiendo del tipo de división celular y patrón de crecimiento. En términos generales, los hongos pueden desarrollarse como levaduras o como hongos filamentosos (Powers-Fletcher et al., 2016).

1.2 Hongos filamentosos

Los hongos filamentosos se caracterizan por la formación de estructuras vegetativas denominadas hifas, las cuales son filamentos que oscilan entre 5-10 μm de diámetro, sin presentar una longitud definida. Las hifas se extienden por medio de crecimiento apical y, dependiendo del filo al que pertenece el hongo, pueden presentar divisiones transversales conocidas como septos, que segmentan la estructura de la hifa (ver Figura 1) (Harris, 2019). El conjunto de hifas conforma el micelio, una característica morfológica clave, que ha facilitado a los hongos filamentosos colonizar y expandirse a través de diversos nichos ecológicos (Ingraham e Ingraham, 1998; Garcés de Granada et al., 2003; Carris et al., 2012).

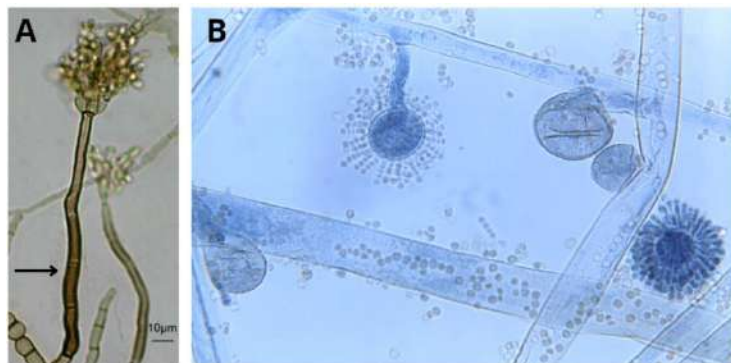


Figura 1. Hifas en hongos filamentosos. (A) Microscopía de una preparación fresca con azul de lactofenol de un hongo del género *Cladosporium*, donde se pueden observar hifas melanizadas, septadas y de pared gruesa (Almaguer Chávez et al., 2014). (B) Microscopía de una preparación fresca de un hongo del género *Syncephalastrum*, se destacan hifas gruesas, hialinas, de pared delgada y cenocíticas (CDC Public Health Image Library, PHIL).

El micelio puede desarrollarse en el interior de distintos sustratos, en cuyo caso se denomina micelio vegetativo. Por otro lado, también puede proyectarse sobre la superficie, formando estructuras especializadas o conidias, constituyendo así el micelio aéreo, el cual cumple un rol fundamental en la reproducción y dispersión del hongo (Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

Una de las adaptaciones funcionales del micelio es la secreción de enzimas, las cuales facilitan la descomposición de sustratos complejos en compuestos más simples, permitiendo así la absorción de nutrientes a través de la pared celular. En los hongos, esta pared constituye un rasgo distintivo que los separa de otros reinos, ya que está compuesta principalmente de quitina y glucanos. Estos componentes proporcionan rigidez y resistencia estructural, además de influir en la morfología celular, un aspecto clave en la clasificación taxonómica de diversas especies (Garcés de Granada et al., 2003; Carris et al., 2012).

1.2.1 Nutrición

La nutrición en hongos es de tipo heterótrofa, elemento que los diferencia de las plantas. Este grupo de organismos depende de la absorción de nutrientes a partir de sustratos externos mediante la liberación de enzimas, las cuales descomponen moléculas más complejas en compuestos más simples que luego pueden ser absorbidos por medio de las hifas (Garcés de Granada et al., 2003; Dube, 2013).

En función del tipo de sustrato y de los mecanismos de adquisición de nutrientes, los hongos se pueden clasificar en saprófitos y parásitos.

Es fundamental establecer una diferencia entre los hongos parásitos y los hongos con un comportamiento simbiótico. Aunque ambos dependen de un hospedero vivo, los hongos simbióticos establecen una relación mutualista que no perjudica al hospedero; en este caso, utilizan al hospedero como mediador para acceder a nutrientes del suelo. A cambio, el hospedero también se beneficia del hongo, aprovechando nutrientes que de otra manera le serían inaccesibles (Powers-Fletcher et al., 2016).

Para los hongos, al igual que para otros organismos, ciertos elementos son fundamentales para su desarrollo y crecimiento. En particular, los hongos requieren aproximadamente 17 elementos esenciales, algunos de los cuales están presentes en cantidades muy bajas (entre 0,001 y 0,05 ppm), denominados microelementos. Otros elementos, necesarios en concentraciones mucho mayores, se conocen como macroelementos. La ausencia de cualquiera de estos grupos de elementos en el medio inhibe el crecimiento del hongo.

Estos elementos se clasifican en dos categorías principales: metálicos y no metálicos. Los elementos metálicos, como el potasio, magnesio y el hierro,

desempeñan funciones activas y específicas en el metabolismo fúngico, participando en procesos enzimáticos. Por otro lado, los elementos no metálicos, tales como el hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno, cumplen roles estructurales dentro del protoplasma, constituyendo la base de las moléculas orgánicas y los componentes celulares (Dube, 2013; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

1.2.2 Crecimiento

El crecimiento es un proceso bastante complejo, caracterizado por el incremento irreversible en la masa de un organismo, sin embargo, debido a su naturaleza compleja, no es posible brindar una definición precisa. En el caso de los hongos, la medición del crecimiento puede variar según su morfología. Para hongos filamentosos, se realiza generalmente una cuantificación por medio del peso seco, la tasa de crecimiento hifal o por el aumento diametral de las colonias. En el caso de hongos unicelulares, el crecimiento es medido a través de la turbidez o conteo celular (Cepero de García, 2012).

El crecimiento vegetativo en hongos filamentosos requiere de un control preciso en la síntesis de la pared celular, el desplazamiento de orgánulos dentro de la célula y la migración citoplasmática. Dicho proceso ocurre mediante la extensión del ápice de las hifas, las cuales se desarrollan sobre o a través del sustrato. Dado que el crecimiento se limita al ápice de las hifas, se considera que es un crecimiento de tipo apical (ver Figura 2). El desarrollo de las hifas produce ramificaciones que, en conjunto, forman el micelio y aunque el crecimiento de los hongos es bastante rápido debemos tomar en cuenta que se encuentra limitado por la disponibilidad de nutrientes en el sustrato y las condiciones ambientales (Cepero de García, 2012; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

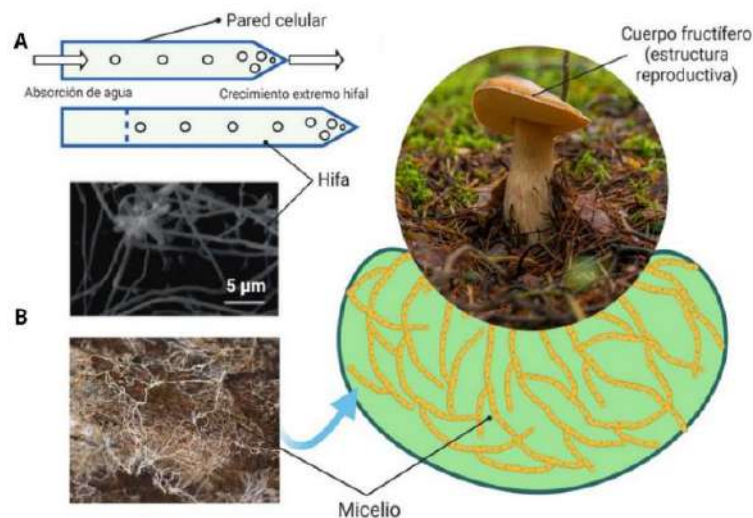


Figura 2. Crecimiento vegetativo. (A) Ilustración representativa del crecimiento apical en las hifas, (B) Desarrollo del micelio sobre un sustrato (Feijóo-Vivas et al., 2021).

Dentro de los factores esenciales para el crecimiento de los hongos se incluyen la temperatura, la humedad, la luz y el oxígeno. La temperatura es particularmente el requerimiento más importante, ya que afecta directamente la tasa metabólica y la actividad enzimática (Cepero de García, 2012). A medida que la temperatura aumenta, el crecimiento también aumenta, ya que se intensifican las reacciones enzimáticas y químicas intracelulares; sin embargo, la exposición a temperaturas superiores a 40°C puede inactivar irreversiblemente muchos componentes celulares. Por el contrario, los hongos pueden sobrevivir en estado de latencia a temperaturas inferiores a 0°C mediante estructuras de resistencia como clamidosporas o esclerocios (Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

Según la temperatura requerida, los hongos se dividen en tres grupos: psicrófilos, mesófilos y termófilos. Los hongos psicrófilos crecen en bajas temperaturas, entre 0 y 17°C; los mesófilos, en un rango de 20 a 40°C; y los termófilos crecen en temperaturas superiores a 40°C (Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

La humedad es otro factor indispensable para el crecimiento de los hongos, estrechamente relacionado con la disponibilidad de agua. Los hongos requieren agua para facilitar la entrada de nutrientes a la célula y para mantener la integridad de los componentes celulares (Cepero de García, 2012). Para la germinación de esporas, por ejemplo, la mayoría de los hongos requieren una humedad relativa superior al 70% (Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

A diferencia de las plantas, los hongos utilizan la luz no como fuente de energía, sino como medio de información. Los hongos poseen la capacidad de percibir la luz para anticipar condiciones desfavorables para su crecimiento vegetativo. Aunque la luz no juega un rol crítico, sí influye en el desarrollo de estructuras sexuales y en la sincronización de la producción y dispersión de conidias. Los efectos de la luz en los hongos incluyen la inducción o inhibición del desarrollo de estructuras sexuales, la regulación del reloj circadiano y la supresión de la liberación de esporas. Además, también afecta la regulación de rutas metabólicas, tales como la síntesis de pigmentos y la orientación del crecimiento (Tisch y Schmoll, 2010; Cepero de García, 2012).

Como último requerimiento tenemos el oxígeno. La mayoría de los hongos entran dentro del grupo llamado aerobios facultativos, estos hongos pueden crecer en ambientes con oxígeno, pero si este elemento es escaso o ausente pueden crecer por medio de la fermentación de azúcares. Sin embargo, existen otros grupos de hongos clasificados según sus necesidades de oxígeno: aerobios obligados, fermentadores obligados y anaerobios facultativos, lo cual refleja su notable capacidad de adaptación (Cepero de García, 2012).

1.2.3 Reproducción

La reproducción se considera como la formación de nuevos organismos que conservan las características distintivas de la especie (Cepero de García, 2012). Este proceso es un aspecto característico del reino eucariota, que destaca por su alta demanda de energía, y en el caso de los hongos hace uso de materiales adquiridos y almacenados durante la fase de crecimiento vegetativo (Harshman y Zera, 2007).

Este proceso trae consigo múltiples beneficios que van ligados a la generación de diversidad genética y la recombinación en los códigos genéticos. Estos mecanismos permiten la eliminación de mutaciones perjudiciales, ayudando así a una mejor descendencia (Ni et al., 2011; Dyer y Kück, 2017).

En los hongos, además de su crecimiento vegetativo en forma de levaduras o hifas, se puede observar la capacidad de formar estructuras reproductivas. Estos organismos tienen la habilidad de reproducirse tanto de manera sexual como de forma asexual (Powers-Fletcher et al., 2016). Bajo este contexto, podemos identificar a la fase sexual que recibe el nombre de fase teleomórfica, la cual se distingue de la fase asexual, denominada anamórfica. Por su parte, el conjunto completo del ciclo de vida del hongo se denomina holomorfo (ver Figura 3) (Cepero de García, 2012).

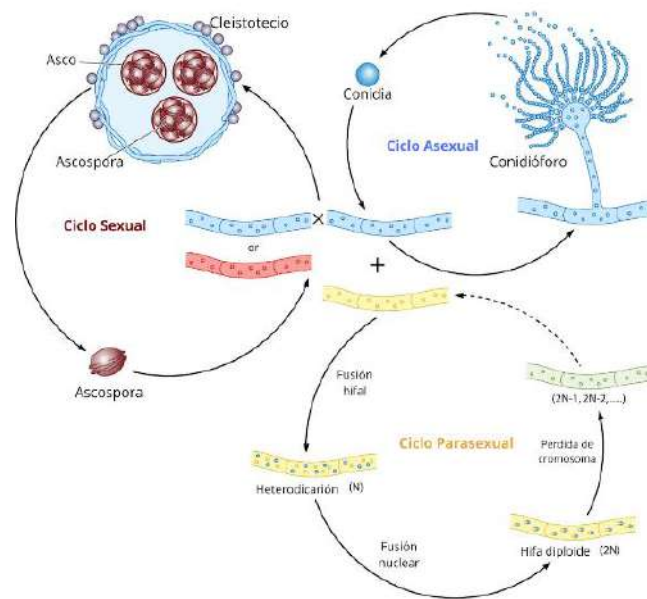


Figura 3. Ciclo de vida de *Aspergillus nidulans*. Ciclo asexual: fase anamórfica en donde se producen una gran cantidad de conidias que luego se desarrollan como hifas. Ciclo sexual: fase teleomorfa donde se producen nuevas estructuras llamadas cleistotecios en donde se encuentran miles de ascosporas. Ciclo parasexual: se producen hifas diploides para que luego ocurra una pérdida de cromosomas y se restablezca el estado haploide de las hifas. El conjunto completo de todos estos ciclos de vida se le denomina holomorfo (Lee et al., 2010).

La capacidad de los hongos para reproducirse de manera eficiente y rápida es crucial para garantizar su adaptación a diversos ambientes. Mientras que algunas especies se limitan a un único modo de reproducción, otras presentan tanto reproducción sexual como asexual, lo que amplía su capacidad adaptativa y evolutiva (Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

1.2.3.1 Reproducción asexual

En la mayoría de los hongos, a diferencia de los animales, la reproducción sexual no es un proceso obligatorio. Aunque en algunos casos esta forma de reproducción se encuentra presente, la mayoría de los hongos pueden alternar entre una fase sexual y una asexual dependiendo de las condiciones del entorno en donde se encuentren (Sun y Heitman, 2011).

Sin embargo, en muchas especies, la reproducción asexual ha demostrado ser sumamente exitosa, lo que ha dado como resultado una disminución o incluso la desaparición total de la etapa sexual en algunos hongos. A estos hongos se les denomina “hongos anamórficos” u “hongos imperfectos”. Este grupo posee aproximadamente 20,000 especies distribuidas dentro de distintos filos (Seifert y Gams, 2001; Gehlot et al., 2012; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

Los hongos anamórficos tienen la capacidad de producir rápidamente grandes cantidades de esporas, lo que requiere un menor consumo de energía. Por esta razón, la reproducción asexual resulta ser más sencilla y, en consecuencia, es la forma de reproducción más común tanto en condiciones normales ambientales como en condiciones de laboratorio.

En los hongos filamentosos, la reproducción asexual se lleva a cabo mediante esporas generadas por células especializadas conocidas como conidiógenas. Estas esporas, se denominan conidios. El proceso de formación de conidios se conoce como conidiogénesis y, usualmente, se pueden observar estructuras diferenciadas que sostienen una o más células conidiógenas, denominadas conidióforos (ver Figura 4). Tradicionalmente, los conidios se definen como estructuras especializadas, no móviles, que suelen desarrollarse en los laterales o en los extremos de una célula esporogénica (Adams, 1995; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

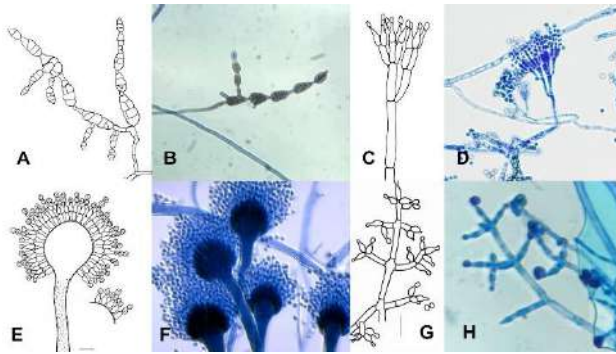


Figura 4. Esquema y microscopías de distintos tipos de conidióforos en hongos filamentosos. (A-B) *Alternaria* sp. (C-D) *Penicillium* sp. (E-F) *Aspergillus* sp. (G-H) *Trichoderma* sp. (CDC Public Health Image Library, PHIL).

En algunos hongos los conidios son producidos en estructuras multihifales denominadas conidiomas. Existen varios tipos de conidiomas, entre los cuales destacan: sinema, esporodoquio, acérvulo, picnidio, entre otros (Cepero de García, 2012). El conidioma de tipo esporodoquio se caracteriza por la presencia de una masa de conidios sobre un grupo de conidióforos cortos, formando una especie de pseudoparénquima. Por otro lado, el sinema se define como un grupo de conidióforos compactos, erectos, relativamente largos, que suelen estar fusionados entre sí. Estas estructuras producen conidios tanto en el ápice como en los lados. Cabe destacar que ambos tipos de conidiomas pueden incluir estructuras estériles asociadas (Gusmão y Grandi, 1997).

El acérvulo es otro tipo de conidioma que se presenta como una capa delgada de pseudoparénquima, en la cual los conidióforos o células conidiógenas y los conidios están cubiertos por el tejido. En cambio, el picnidio es un cuerpo fructífero asexual con forma de botella, generalmente ostiolado (con una abertura en su ápice). La pared del picnidio puede variar en textura y grosor, mientras que su interior está revestido con una capa de conidióforos (Cepero de García, 2012).

Existen otras estructuras que caracterizan este tipo de reproducción (ver Figura 5), usualmente las más comunes son:

1. Esporangiosporas

Estas son propágulos producidos en gran número por la segmentación del protoplasma de una estructura especializada llamada esporangio. Un ejemplo claro puede ser observado en los géneros *Mucor* y *Rhizopus*. La hifa especializada que sostiene uno o más esporangios se llama esporangióforo, el cual puede ser simple o ramificado (Cepero de García, 2012; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

2. Clamidosporas

Estas esporas son producidas por la condensación del citoplasma y el engrosamiento de un segmento de la hifa. A diferencia de otras esporas, no se

desprenden fácilmente del micelio y son altamente resistentes, capaces de sobrevivir a condiciones extremas de temperatura. Su función principal es permitir la supervivencia en ambientes hostiles, generando nuevos individuos cuando las condiciones se tornan favorables. Según su posición, pueden ser terminales o intercalares (Ingraham e Ingraham, 1998; Cepero de García, 2012; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019;).

3. Artrosporas

A diferencia de las clamidosporas, son conidios formados por la fragmentación de la hifa, produciendo así células individuales capaces de generar nuevos individuos (Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

4. Blastosporas

Son esporas producidas mediante la gemación o blastogénesis de la célula conidiógena que se mantiene fija. Las blastosporas pueden encontrarse de manera aislada o juntas en disposición de racimo o cadenas (Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

5. Fialosporas

Estas esporas son generadas a partir de una célula conidiógena denominada fiálide, la cual tiene una forma ensanchada en su base y más estrecha en la parte superior, como un florero. Las fialosporas pueden encontrarse directamente en una hifa vegetativa o sobre un conidióforo. Este tipo de célula conidiógena es característico de hongos del género *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Trichoderma* y *Fusarium* (Cepero de García, 2012).

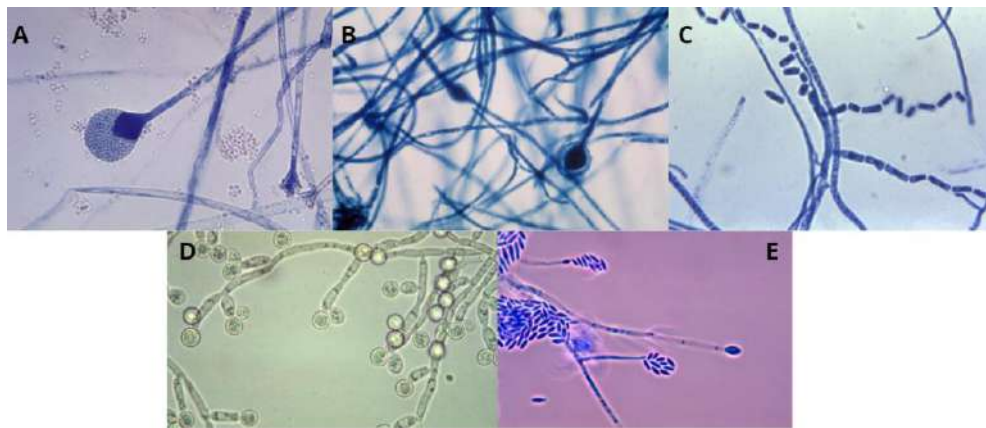


Figura 5. Estructuras características de la reproducción asexual en hongos. (A) Esporangio maduro y esporangiosporas en el género *Mucor*. (B) Clamidospora terminal, característica del género *Trichoderma* y *Fusarium*. (C) Artrosporas presentes en el género *Oidium*. (D) Blastosporas aisladas y dispuestas en cadena vistas en especies de *Candida*. (E) Fialoespora encontrada en una monofiálide de un hongo del género *Fusarium*, este tipo de esporas es característica de géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Trichoderma* y *Fusarium* (CDC Public Health Image Library, PHIL).

1.2.3.2 Reproducción sexual

La reproducción sexual es una característica universal del reino Eucariota, y son bien conocidos los numerosos beneficios de este tipo de reproducción, al generar diversidad genética que permite a la progenie un mayor potencial adaptativo, además de actuar de manera más eficiente en la purga de mutaciones acumuladas en los genomas parentales (Dyer y Kück, 2017; Sun et al., 2019).

En los hongos, la reproducción sexual tiene dos efectos críticos fundamentales: proveer un mecanismo para la generación de esporas sexuales y la generación de procesos de reparación, recombinación y reordenamiento del material genético durante la meiosis (Staben, 1995).

La ocurrencia de este tipo de reproducción en los hongos está regulada por tres factores principales: ambientales (temperatura, luz), nutricionales (presencia de nitrógeno o carbono) y genéticos (tipo de apareamiento o factores de fertilidad). Particularmente, el ambiente y la nutrición tienen un efecto fundamental en el desarrollo del hongo, determinando cuándo debe ocurrir la diferenciación sexual o la esporulación (Peraza-Reyes y Malagnac, 2016).

El ciclo sexual en los hongos implica una alternancia entre fases haploides y diploides. La reproducción sexual comprende cinco etapas básicas: diferenciación sexual, plasmogamia, cariogamia, meiosis y esporogénesis (Peraza-Reyes y Malagnac, 2016).

La **diferenciación sexual** es el proceso mediante el cual se forman estructuras especializadas de apareamiento, usualmente descritas como +/- (o bien AA, aa o femeninas/masculinas). Este proceso incluye el reconocimiento y atracción de las parejas de apareamiento, así como la alternancia entre las fases haploides y diploides. Generalmente, está controlado por feromonas y regulado genéticamente. El desarrollo y diferenciación sexual de los hongos está controlado por un locus genético llamado tipo de apareamiento o *locus MAT*. Cada grupo de hongos desarrolló una estrategia diferente para la determinación del sexo (Lee et al., 2010).

Los hongos han evolucionado para presentar dos modos básicos de reproducción sexual: **heterotalismo** y **homotalismo**. Los hongos **heterotálicos** requieren de dos parejas con un tipo de apareamiento opuesto, pero con idiomorfos MAT compatibles. En contraste, los hongos **homotálicos** son autofértiles y pueden completar el ciclo sexual sin la necesidad de una pareja de tipo de apareamiento opuesto (Metin y Heitman, 2017; Wilson et al., 2021). Después de la diferenciación y el reconocimiento, ocurre la **plasmogamia**. En esta etapa, la pared de las células especializadas se disuelve y, en consecuencia, sus citoplasmas son fusionados, dando como resultado que los núcleos haploides (n) de ambas células se encuentren en un mismo citoplasma. En este punto, el hongo cambia de un estado

monocariótico (núcleos genéticamente uniformes) a uno dicariótico (núcleos genéticamente diferentes).

La **cariogamia** es el proceso que sigue a la plasmogamia e implica la fusión de los núcleos haploides (n) de ambas células, formando un cigoto diploide ($2n$). Posteriormente, el cigoto diploide ($2n$) experimenta **meiosis**, durante la cual se realizan procesos de replicación, recombinación y reordenamiento del ADN, dando como resultado la formación de nuevos núcleos haploides (n). Finalmente, en la **esporogénesis**, los núcleos haploides (n) resultantes forman diferentes esporas sexuales haploides. Estas esporas tienen la capacidad de permanecer en su estado haploide (n) para resistir condiciones ambientales adversas, manteniéndose en un estado de latencia hasta que el ambiente sea óptimo para su germinación (Ni et al., 2011; Cepero de García, 2012; Saleh et al., 2012; Beekman et al., 2016; Peraza-Reyes y Malagnac, 2016).

El reino Fungi está subdividido en 6 filos capaces de reproducirse de forma sexual: Ascomycota, Basidiomycota, Mucormycota, Zoopagomycota, Chytridiomycota y Glomeromycota (Lee et al., 2010; Spatafora et al., 2016; Dyer y Kück, 2017).

Ascomycota

De todos los grupos de hongos, el más numeroso y complejo es el filo Ascomycota (Ferráez et al., 2004). Algunos ascomicetos tienen la capacidad de esporular de manera sexual y asexual. Las esporas asexuales que producen se encuentran expuestas; por el contrario, sus esporas sexuales están envueltas en una estructura llamada asco. Las esporas sexuales producidas por los ascomicetos se denominan ascosporas, y dentro de un solo asco pueden encontrarse entre cuatro a ocho ascosporas, dependiendo de la especie (Lee et al., 2010).

A grandes rasgos, el desarrollo sexual de los ascomicetos incluye una fusión celular y nuclear, seguida de un proceso de meiosis. Todo el proceso de reproducción sexual está organizado por el *locus MAT*, el cual codifica los factores genéticos necesarios para este desarrollo.

Como es de esperar, la reproducción sexual en ascomicetos filamentosos es mucho más compleja que en el caso de las levaduras. La reproducción sexual en ascomicetos es de tipo heterogámica, esto quiere decir que los gametos/gametangios son diferentes morfológicamente. Estos gametangios pueden diferenciarse siendo masculinos (espermacio/anteridio) y femeninos (ascogonio).

El proceso de plasmogamia ocurre cuando el espermacio entra en contacto con el ascogonio y se genera una nueva hifa especializada llamada hifa ascógena. Mediante mitosis se produce una célula madre del asco. Dentro de esta célula ocurre la cariogamia, lo que da lugar a un asco joven; posteriormente, por medio de meiosis,

se generan las ascosporas. Es importante destacar que, en algunos ascomicetos, las ascosporas sufren mitosis para producir un total de ocho ascosporas, mientras que en otras especies se mantienen con cuatro ascosporas por asco (Lee et al., 2010; Cepero de García, 2012; Bennett y Turgeon, 2016; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

Los ascos, a su vez, se desarrollan dentro de estructuras denominadas ascocarpos. Existen cuatro tipos principales de ascocarpos, cada uno con características particulares: cleistotecio, apotecio, peritecio y ascostroma (ver Figura 6) (Cepero de García, 2012).

Cleistotecio: Es un tipo de ascocarpo con un fenotipo más o menos globoso, cerrado y sin presencia de un poro. Está delimitado por una pared que se rompe al momento de liberar las ascosporas. En su interior se encuentran los ascos sin ningún tipo de distribución particular (Cepero de García, 2012; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

Apotecio: Este ascocarpo puede observarse en especies más complejas y consiste en una estructura en forma de copa o disco que dispone los ascos organizados en un himenio (Cepero de García, 2012; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

Peritecio: Al igual que el cleistotecio, presenta una morfología más o menos redonda, pero dispone de un cuello, largo o corto, que le da una forma de botella. Presenta un ostiolo en la parte superior por el que salen las ascosporas. En su interior se encuentran los ascos (Cepero de García, 2012; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

Ascostroma: Este tipo de ascocarpo no tiene una forma definida. Los ascos se forman dentro de cavidades que presentan una sola pared que rodea todas las cavidades (Cepero de García, 2012; Estrada Salazar y Ramírez Galeano, 2019).

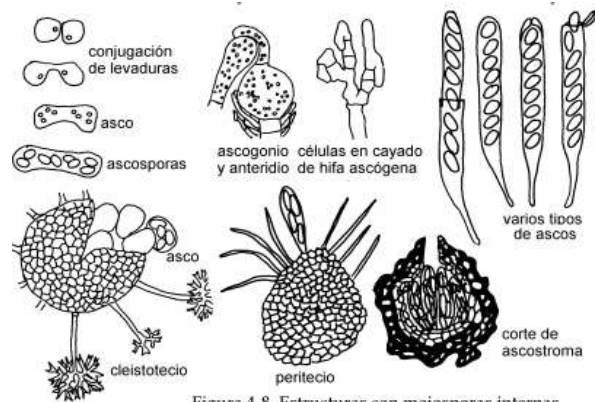


Figura 4-8. Estructuras con meiosporas internas.

Figura 6. Tipos de ascocarpos en la reproducción asexual. Esquema ilustrando los distintos tipos de ascocarpos encontrados en el proceso de reproducción sexual fúngica (Barnett y Hunter, 1998).

Basidiomycota

Basidiomycota es el filo hermano de los Ascomycota, posee un número estimado de 30,000 especies siendo la mayoría de ellas especies patógenas. Los basidiomycota a su vez son divididos en tres subfilos llamados: *Agaricomycotina*, *Ustilaginomycotina* y *Pucciniomycotina* (Morrow y Fraser, 2009).

A diferencia que su filo hermano, las esporas sexuales que producen no se encuentran envueltas en un asco, sino que se encuentran expuestas en el aire o la superficie de un basidio. En este filo las esporas sexuales son llamadas basidiosporas y estas son producidas en el basidio. ya que ahí se realiza el proceso de cariogamia y meiosis (Lee et al., 2010; Coelho et al., 2017).

El basidio debe pasar por distintas fases en su desarrollo antes de que sean producidas las basidiosporas. La primera de ellas consiste en la formación del probasidio, donde ocurre la cariogamia y se inicia la formación de estructuras llamadas esterigmas. Posteriormente, el probasidio pasa a ser metabasidio, donde tiene lugar la meiosis. Sobre los esterigmas se producen las basidiosporas. En condiciones típicas, un basidio está formado por un metabasidio sin septos y cuatro esterigmas que producen basidiosporas. Sin embargo, cabe destacar que el número de esterigmas y basidiosporas puede diferir según la especie (Cepero de García, 2012).

Mucoromycota

Los Mucoromycota comprenden la mayoría de los hongos antiguamente llamados zigomicetos, incluyendo géneros comunes como *Rhizopus* y *Mucor*. Este filo es el grupo hermano de Dikarya, que incluye a los Ascomycota y Basidiomycota. Los miembros de Mucoromycota están principalmente asociados a plantas y presentan diversos estilos de vida, como descomponedores de materia vegetal, endófitos de raíces y hongos micorrízicos. La reproducción sexual en especies heterotálicas se

inicia mediante la producción de feromonas volátiles. Las feromonas inducen el crecimiento de progametangios que se fusionan formando gametangios, donde los núcleos haploides se aíslan. Luego, el citoplasma y los núcleos se fusionan (plasmogamia y cariogamia), generando un cigoto diploide que se desarrolla en una zigospora de pared gruesa protegida por un zigosporangio. Bajo condiciones favorables, la zigospora germina y el núcleo diploide experimenta meiosis para producir núcleos haploides que originan nuevas esporas (Lee et al., 2017).

Zoopagomycota

Los Zoopagomycota constituyen una línea evolutiva más temprana dentro de los antiguos zigomicetos. Sus miembros son principalmente parásitos o patógenos de pequeños animales y otros hongos (micoparásitos). Este filo incluye los subfilos Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina y Zoopagomycotina. La reproducción sexual en estos hongos también depende de la conjugación de gametangios, dando lugar a zigosporas globosas. Existen especies heterotálicas y homotálicas, formándose las zigosporas entre tipos sexuales compatibles o dentro de un mismo talo, respectivamente. Su formación involucra hifas o células del talo especializadas, y presenta diversidad entre los subgrupos (Spatafora et al., 2016).

Chytridiomycota

Los quitridios representan a distintas especies de hongos basales que comparten las estructuras flagelares de los metazoos y coanoflagelados, que se ha perdido en otros linajes fúngicos más derivados. Estos son hongos zoospóricos y viven principalmente en agua dulce o suelos. Algunos son marinos y pueden ser sapróbicos o parásitos en algas, plantas, animales y otros hongos (Lee et al., 2010; Raghukumar, 2017).

Las especies dentro de este grupo pueden reproducirse de forma sexual y asexual. Particularmente, la reproducción sexual se da por medio de esporangios en reposo, los mismos son de pared gruesa y resistentes ante el estrés ambiental. El proceso de meiosis ocurre dentro de estos esporangios dando como resultado un nuevo esporangio maduro. En estos hongos la reproducción sexual se da por isogamia o anisogamia, esto quiere decir que ocurre una fusión de gametos que pueden ser morfológicamente iguales o diferentes respectivamente (Lee et al., 2010; Cepero de García, 2012).

Glomeromycota

El filo Glomeromycota es un grupo de hongos antiguos y ubicuos, capaces de formar relaciones simbióticas con más del 80% de las plantas terrestres, formando estructuras llamadas micorrizas arbusculares (MA), esta relación ha sido fundamental para el desarrollo y éxito evolutivo en las plantas.

Desde el punto de vista evolutivo las MA son organismos interesantes, ya que han logrado propagarse por más de 500 millones de años sin una fase de reproducción sexual demostrada. La ausencia prolongada de reproducción sexual en estos organismos es inusual en eucariotas, debido a que, según la teoría evolutiva, las poblaciones estrictamente asexuales deberían acumular mutaciones deletéreas y extinguirse rápidamente.

Sin embargo, se ha evidenciado que este filo podría presentar un tipo de reproducción sexual críptica o un ciclo parasexual. Si bien no hay pruebas morfológicas de que estructuras sexuales alguna vez hayan estado en este filo, recientemente se ha identificado un *locus MAT* en la especie *Rhizophagus irregularis*, lo que sugiere un origen sexual (Rohan y Corradi, 2013; Dyer y Kück, 2017).

1.3 Diversidad de los hongos

Desde hace muchos años, los científicos han visto a la biodiversidad como uno de los aspectos más importantes e interesantes de la biología. La diversidad representa la distinta variedad de organismos vivos proveniente de todos los ecosistemas, esta incluye a todas las plantas, animales, insectos y microorganismos (Gautam et al., 2022). Los hongos emergieron como un grupo distintivo de eucariotas unicelulares durante el período Precámbrico. Las estimaciones recientes acerca del origen del reino Fungi se basan en los análisis de relojes moleculares que presentan rangos que van desde hace 760 millones de años hasta unos 1.060 millones de años (Money, 2016). Siendo este reino uno de los más antiguos y diversos dentro del árbol filogenético de los eucariotas (ver Figura 7) (Li et al., 2021).

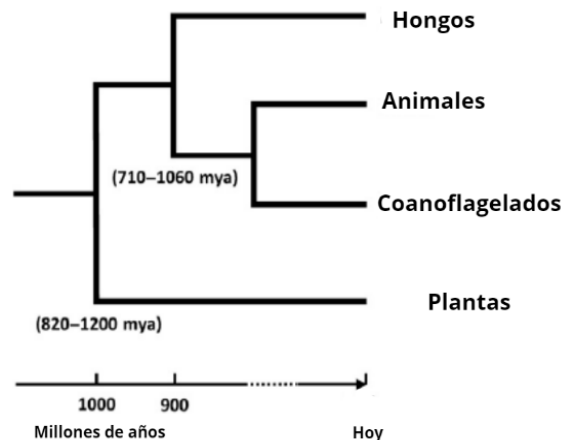


Figura 7. Relaciones evolutivas en eucariotas. Relaciones evolutivas entre hongos, animales, coanoflagelados y plantas con una línea de tiempo que muestra la aparición de los opistocontos (hongos, animales y coanoflagelados) hace aproximadamente mil millones de años. Se cree que los hongos se desarrollaron como un nuevo reino de organismos hace entre 710 y 1060 millones de años (Money, 2016).

Dentro de todos los taxones eucariotas, los hongos ocupan el segundo lugar en cuanto a diversidad, aunque solo se tengan documentadas un 6,8% de especies (150,000 especies descritas), se estima que hay aproximadamente 2.2 millones de especies más por describir (ver Figura 8) (Xu et al., 2023).

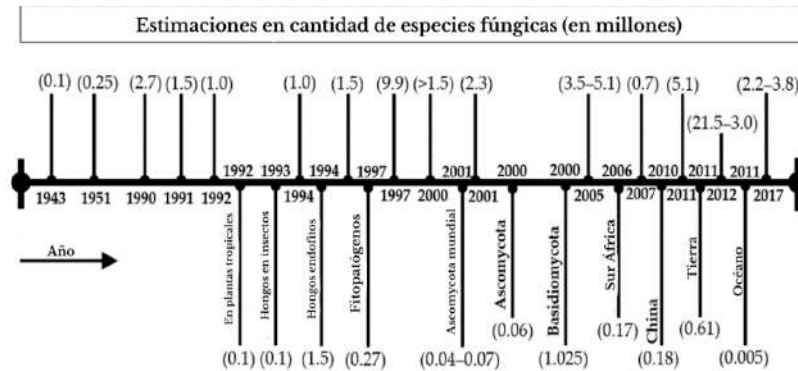


Figura 8. Estimación en el número global de especies fúngicas (Gautam et al., 2022).

De todas las especies descritas, alrededor del 90% de ellas poseen un estilo de vida saprófito y el 10% restante son especies que constituyen un grupo de hongos de importancia médica, dentro de este grupo unas 200 especies se reportan como patógenos de mamíferos, 20,000 especies se describen como fitopatógenas y más de 700 especies son catalogadas como entomopatógenas

1.4 Taxonomía de los hongos y métodos de identificación

El estudio de la diversidad en los hongos comprende múltiples disciplinas, como la taxonomía, la clasificación y la sistemática. La taxonomía se encarga de identificar y describir los diversos organismos; mediante la clasificación, estos organismos son organizados en distintas jerarquías (como género, familia, orden, etc.), mientras que la sistemática analiza las relaciones filogenéticas entre las especies y grupos de organismos (Money, 2016).

Inicialmente, se definieron cuatro filos principales dentro de los hongos verdaderos, los cuales se categorizaron en función de sus características fenotípicas y reproductivas, siendo estos los filos: Ascomycota, Basidiomycota, Mucoromycota, Zoopagomycota y Chytridiomycota (Naranjo-Ortiz y Gabaldón, 2019). Sin embargo, actualmente se han logrado identificar más de 200 órdenes de hongos distribuidos en 12 filos diferentes. Estos filos se agruparon posteriormente en seis categorías principales, incluyendo los subreinos Dikarya y Chytridiomycota, los filos Mucoromycota, Zoopagomycota y Blastoclodomycota, así como el grupo Opisthosporidia (Li et al., 2021).

En la micología, la taxonomía se ha basado en métodos clásicos de identificación fundamentados en el análisis de las diferentes características morfológicas de los

hongos. Sin embargo, los enfoques tradicionales presentan diversas limitaciones. En el caso de los hongos filamentosos, las características macroscópicas y microscópicas no siempre concuerdan, ya que pueden depender del medio en donde crece el hongo y, frecuentemente, varían entre los estados sexuales (anamorfos y teleomorfos). Además, algunos géneros exhiben dimorfismos o pleomorfismos, lo que puede llegar a complicar una identificación bajo estas metodologías. (Borman y Johnson, 2023).

Desde la introducción del uso de la biología molecular para la identificación de especies, el número de taxones descritos ha sido capaz de aumentar aproximadamente de 1000 a 2000 por año. Esto demuestra la importancia de hacer uso de metodologías moleculares para la identificación y clasificación de especies. Por esta razón, la micología ha adoptado por el uso de técnicas basadas en la amplificación por PCR y la secuenciación de fragmentos del genoma fúngico, combinadas con la comparación de secuencias en bases de datos públicas (Bhunjun et al., 2022).

La correcta identificación de los hongos es una de las herramientas más importantes utilizadas para la documentación de los diferentes niveles taxonómicos (género, especie). Las técnicas de identificación fúngica pueden ser clasificadas en dos tipos: métodos convencionales (características morfológicas, medios de cultivo) y métodos modernos (biología molecular).

1.4.1 Métodos convencionales

Es el tipo más amplio de técnicas, se utilizan para estudiar cualquier grupo de hongos. Las técnicas clásicas incluyen la incubación de sustratos en cámaras húmedas, muestreos directos, cultivos en placas, entre otros. El uso de medios de cultivo es la técnica más habitual, la misma consiste en inocular una muestra fúngica desde su ambiente natural e incubarla en un medio de cultivo bajo condiciones controladas para su posterior aislamiento y estudio. Bajo estas condiciones las características macroscópicas (color, textura, tinción del medio, presencia de exudados forma de la colonia, entre otras), así como la tasa de crecimiento del hongo pueden ser fácilmente estudiadas.

El uso de medios de cultivo permite también la observación de las características microscópicas de la colonia por medio de la preparación de placas. La observación de estas características es la parte más importante para la identificación de hongos filamentosos. El método más utilizado consiste en remover parte del crecimiento superficial y colocarlo en un portaobjeto, posteriormente se cubre la muestra con un líquido para montaje (azul de lactofenol) y con un cubreobjeto se ejerce presión sobre la muestra, por último, la placa es examinada bajo un microscopio utilizando los objetivos de 40x y 100x (Campbell et al., 2013; Gautam et al., 2022).

1.4.2 Métodos moleculares

Actualmente, los métodos modernos basados en la biología molecular son ampliamente utilizados debido a sus resultados más rápidos y exactos. El uso de información molecular comenzó en la década de 1990 con las investigaciones acerca de los cebadores ribosomales realizadas por White *et al.* Esto dio como resultado la generación de secuencias de ADN fúngico con estos cebadores para la subunidad grande (nrLSU-26S o 28S), la subunidad pequeña (nrSSU-18S) y toda la región espaciadora transcrita internamente (ITS1, 5.8S, ITS2; ca. 0,45–0,80 kb) (Raja et al., 2017).

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha convertido en uno de los métodos modernos más utilizados para la identificación de nuevas especies. La PCR es la amplificación enzimática de una región específica con ayuda de iniciadores cortos, esto permite obtener mayores cantidades del ADN amplificado. La PCR tradicional es una técnica cualitativa, esto quiere decir que es utilizada para detectar e identificar hongos en distintas muestras ambientales o clínicas, por lo que es el núcleo central para el diagnóstico molecular (Atkins y Clark, 2004). Esta técnica se basa en tres pasos: la selección de una región específica de ADN para la identificación, la extracción del material genético y un método para identificar la presencia de la región específica de ADN en la muestra.

Como se había mencionado, el ADN ribosomal de los hongos está compuesto por tres genes: el gen de la subunidad grande (25S), el gen de la subunidad pequeña (18S) y el gen 5.8S, dichos genes se encuentran separados por regiones espaciadoras de transcripción interna (ITS), en una unidad que se repite múltiples veces. La región ITS es de suma importancia ya que presenta sitios de alta conservación y muestran variaciones significativas entre hongos estrechamente relacionados, es por esto que se le considera como una región específica ideal para la identificación de especies fúngicas (Atkins y Clark, 2004; Money, 2016; Raja et al., 2017).

Si bien las técnicas moleculares por sí solas presentan múltiples ventajas como una mayor tasa de identificación, así como también la capacidad de identificar hongos en ausencia de caracteres morfológicos notables o recuperar ADN de muestras ambientales directas y una mayor rapidez al mostrar resultados, esto no quiere decir que se deba excluir por completo las técnicas convencionales. En muchas ocasiones es mejor optar por realizar ambas en un estudio.

Las técnicas convencionales, comparadas con las modernas son mucho más económicas y pueden ser ejecutadas con menos equipo dentro de un laboratorio. En otros casos, la falta de datos en las secuencias de ADN de muchos hongos hace muy difícil identificarlos por medio de métodos moleculares, por lo que se debe hacer uso de las técnicas clásicas. Teniendo en cuenta las ventajas y desventajas de

ambos métodos, se encontró que lo óptimo es realizar técnicas convencionales complementadas con análisis moleculares (Atkins y Clark, 2004; Raja et al., 2017; Gautam et al., 2022).

1.5 Hongos filamentosos como agentes causantes de enfermedades

Como se ha mencionado anteriormente, el reino Fungi presenta aproximadamente 150.000 especies descritas y alrededor de 2 millones por describir, siendo este el mayor reino por descubrir dentro de los eucariotas. Aunque los hongos son organismos estrechamente relacionados con los seres humanos, estos a diferencia de los virus y bacterias han recibido menor atención con respecto a sus efectos en la salud humana. Sin embargo, estudios recientes demuestran que el porcentaje anual de micosis es muy alto: se estima que las infecciones superficiales (piel, cabello, uñas y ojos) afectan a mil millones de personas; las infecciones de las mucosas (boca y vagina) a unos 135 millones de personas; las infecciones alérgicas a unos 23,3 millones, mientras que las infecciones invasivas crónicas afectan a varios millones de personas y tienen una tasa de mortalidad extremadamente alta.

Los hongos filamentosos catalogados como patógenos en conjunto con los hongos filamentosos emergentes descritos como contaminantes ambientales han pasado a ser agentes causantes de enfermedades. La falta de atención a los hongos como agentes causantes de enfermedades y el aumento de especies patógenas puede deberse a su naturaleza oportunista, así como también a diagnósticos precoces e ineficaces y un aumento en la población inmunocomprometida.

Normalmente se podía observar que las especies fúngicas patógenas se caracterizaban por tener un crecimiento levaduriforme, sin embargo, actualmente se ha observado un aumento en las enfermedades producidas por hongos filamentosos como: *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Paecilomyces* y *Trichoderma* (Moreno et al., 2016; Rokas, 2022). La patogenia y epidemiología de estos hongos emergentes no es bien conocida, por lo que su diagnóstico es mucho más complicado. La mayoría de los hongos poseen escaso poder como patógeno, sin embargo, algunas especies han logrado adaptarse a las condiciones negativas impuestas por el hospedero y desarrollarse en los tejidos de este.

Los patógenos deben poseer ciertas características que les permitan sobrevivir en tal ambiente, así como mecanismos para evadir las defensas del hospedero (Casadevall y Pirofski, 2001). Para que un hongo se le considere patógeno debe cumplir los siguientes criterios: crecimiento a temperaturas corporales humanas, penetración de las barreras superficiales (la piel), lisis y absorción de tejidos, y resistencia a los sistemas de defensa inmunes, así como también a los aumentos de temperatura corporal (Köhler et al., 2017).

Por otro lado, existen otros factores externos que influyen en la epidemiología de las micosis: 1) alteración de los ecosistemas, 2) migraciones actuales del hombre y los animales, 3) aparición de especies fúngicas emergentes y reemergentes, 4) acceso inadecuado a los servicios de salud, 5) subestimación del diagnóstico de las micosis que mimetizan otras enfermedades, 6) aumento de la población con compromiso de la respuesta inmunitaria, y 7) la escasa disponibilidad de pruebas diagnósticas sensibles y específicas para las micosis (Fernández y Davel, 2019).

1.5.1 Hongos filamentosos patógenos del aire

Los hongos filamentosos provenientes del aire han sido relacionados directamente con diversos problemas de salud que incluyen reacciones alérgicas y toxicológicas, enfermedades infecciosas y afecciones patológicas más graves como aspergilosis, asma y neumonitis. Las esporas son una fuente potencial de contaminación atmosférica, estas se transportan por medio de los bioaerosoles, los cuales contribuyen al aumento de distintas patologías en los seres humanos. De hecho, los seres humanos están expuestos diariamente a una cantidad considerable de esporas fúngicas, inhalando entre 1,000 y 10 billones de ellas al día. Esta exposición constante a bioaerosoles evidencia la importancia de comprender y estudiar la relación entre los distintos géneros de hongos patógenos y su impacto en la salud humana (Al-Shaarani y Pecoraro, 2024).

1.6 Géneros de importancia médica

Alternaria

Los hongos del género *Alternaria* son hifomicetos, dematiáceos. Este género presenta una distribución mundial, con distintas especies saprótrofas comúnmente encontradas en el suelo, aire y material orgánico en descomposición, también puede encontrarse en la piel y conjuntiva de humanos y animales. *Alternaria* afecta generalmente a hospederos inmunocomprometidos, sin embargo, hay reportes de infecciones a hospederos sanos, generalmente las manifestaciones clínicas involucran infecciones cutáneas, subcutáneas y rara vez ocurre una enfermedad invasiva (Pastor y Guarro, 2008).

Al ser encontrado comúnmente en la atmósfera, mantiene una gran importancia en el campo de la aerobiología ya que se asocia con distintas condiciones de salud humana. Se ha logrado observar que la presencia de hongos de este género en el aire se relaciona con el aumento de distintos síntomas respiratorios generando asma, rinosinusitis alérgica, oculomicosis, neumonitis, micosis broncopulmonar alérgica y distintas infecciones en la piel (Al-Shaarani y Pecoraro, 2024).

Cladosporium

El género *Cladosporium* cuenta con hongos ubicuos, saprofitos y dematiáceos, se caracterizan por tener conidias relativamente pequeñas que se diseminan fácilmente por el aire, por lo que estos hongos son generalmente los más aislados en muestras de bioaerosoles. Las especies más comunes son aisladas del suelo o tejido vegetal

siendo fitopatógenos. Sin embargo, varios fitopatógenos en algunas ocasiones pueden llegar a infectar a humanos y animales (Sandoval-Denis et al., 2015).

Distintas especies de *Cladosporium* han sido relacionadas con una variedad de problemas de salud que incluyen enfermedades pulmonares e infecciones cutáneas. Particularmente se han reconocido como el mayor contaminante dentro del aire de los hospitales (Al-Shaarani y Pecoraro, 2024).

Las infecciones oportunistas causadas por este género son principalmente la cromoblastomicosis y feohifomicosis. La cromoblastomicosis es una infección crónica de la piel y tejido subcutáneo, presentan síntomas iniciales como pequeñas pápulas y nódulos escamosos, en casos más severos ocurren la aparición de úlceras y un estancamiento linfático. Por otro lado, las feohifomicosis se presentan como infecciones cutáneas, afectando la piel, tejido subcutáneo y en ocasiones las córneas.

Al igual que otros géneros, *Cladosporium* presenta especies que son capaces de producir micotoxinas, la mayoría de estas no son susceptibles al calor, dando como resultado distintos problemas de salud (Ogórek et al., 2012). Actualmente *Cladosporium* presenta una diversidad de especies reducidas asociadas a patologías humanas, siendo estas: *C. cladosporioides*, *C. herbarum*, *C. oxysporum* y *C. sphaerospermum* (Sandoval-Denis et al., 2015).

Penicillium

Actualmente, el género *Penicillium* presenta más de 200 especies que se encuentran ampliamente distribuidas por el medio ambiente, puede ser aislado comúnmente en el suelo, materia orgánica en descomposición y el aire, siendo este uno de los géneros más encontrados en bioaerosoles. La mayoría de las especies de *Penicillium* no son capaces de crecer a temperaturas de 37°C, por lo que no se les consideran como mayores agentes patógenos, sin embargo, ocasionalmente especies como *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. commune*, *P. cyclopium*, *P. decumbens*, *P. griseofulvum*, *P. lilacium*, *P. oxalicum* y *P. verrucosum*, son aisladas de muestras clínicas.

Se ha demostrado que una exposición prolongada a las esporas producidas por los hongos de este género se relaciona con síntomas respiratorios como sibilancias, así como también reacciones alérgicas y asma (Al-Shaarani y Pecoraro, 2024).

Fusarium

Fusarium es un género de hongos que se caracterizan por ser saprótrofos o parásitos de plantas, comúnmente las especies de este género se desarrollan en entornos agrícolas y tienen la habilidad de producir micotoxinas que contaminan los cultivos durante su crecimiento, cosecha, transporte o almacenamiento. La

exposición a estas micotoxinas tiene efectos negativos en la salud humana, causando una alteración del sistema inmune y daño en el epitelio intestinal (Al-Shaarani y Pecoraro, 2024).

Ya que las especies de este género son ubicuas en la naturaleza, sus conidias son distribuidas por el aire facilitando la colonización saprótrofa de la piel y con frecuencia a mucosa respiratoria. Incluso se ha podido encontrar en la microbiota intestinal en conjunto con otras bacterias y hongos. Sin embargo, las infecciones por *Fusarium* son raras, las especies más frecuentes son *F. oxysporum* y *F. solani*, ocasionalmente *F. dimerum* y *F. guttiforme*. Estas especies se comportan como patógenos oportunistas y esperan a que el hospedero presente alguna lesión o momento de inmunidad deprimida para su colonización. Por otro lado, la presencia de estos hongos en uñas ha sido asociado con onicomicosis (Guarro, 2012; Hof, 2020)

En algunos casos esporádicos pueden ocurrir infecciones sistémicas llamadas fusariosis, las mismas son potencialmente mortales y afectan a pacientes generalmente granulocitopénicos en donde la tasa de mortalidad va desde 50% a 80%, esto es debido a que los hongos de este género pueden formarse dentro de microconidias tisulares que son distribuidas por la sangre, pueden diseminarse a varios órganos como pulmones causando neumonía (Hof, 2020).

Aspergillus

El género de *Aspergillus* incluye a más de 250 especies, donde 20 de ellas se les atribuye infecciones oportunistas al ser humano. Las especies de mayor interés son *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. ustus*, siendo *A. fumigatus* la especie patógena más común en los seres humanos, es responsable de más del 90% de los casos de aspergilosis invasiva, así como también de infecciones pulmonares mortales y alergias broncopulmonares, se le considera una especie crítica dentro de los patógenos fúngicos prioritarios, por su alta tasa de mortalidad en pacientes inmunocomprometidos llegando a ser un 100% en algunos estudios (Guarro, 2012; Al-Shaarani y Pecoraro, 2024).

El pequeño tamaño de las conidias les permite llegar muy lejos en el sistema respiratorio del hospedero, llegando así a colonizar los alvéolos, siendo este el primer paso para una infección sistémica. Además, *A. fumigatus*, junto con *A. flavus* y *A. niger*, tienen la capacidad de infectar ojos, piel, uñas y en casos muy avanzados el sistema nervioso central. Por otro lado, *A. niger* es reconocido como un alérgeno altamente potente asociado a infecciones pulmonares, y en casos extremos a micosis sistemas causando neumonía (Al-Shaarani y Pecoraro, 2024).

Mucorales: *Rhizopus* y *Mucor*

La mucormicosis es una infección causada por los hongos del orden Mucorales, los sitios de infección suelen ser los pulmones, senos nasales, tejido blando, piel, tracto gastrointestinal y sangre. Esta micosis al igual que las anteriores se encuentra principalmente en personas con un sistema inmune comprometido a causa de enfermedades como el VIH, diabetes o por trasplante de órganos u otros procedimientos quirúrgicos. En pacientes con neoplasias hematológicas y trasplantes, la tasa de mortalidad es extremadamente alta siendo mayor del 90%. Los agentes etiológicos de la mucormicosis incluyen a los géneros de *Rhizopus*, *Mucor*, *Lichtheimia*, *Cunninghamella*, *Rhizomucor*, *Apophysomyces*, entre otros.

Las especies del género *Rhizopus* son generalmente hongos saprótrofos encontrados en el suelo, tienen un rol fundamental en la biotransformación de alimentos y como agentes fermentadores. Por otro lado, son capaces de causar enfermedades a plantas, animales y humanos. Una característica que los destaca es su termotolerancia, aparte de su capacidad de formar rizoides y esporangios.

Los análisis moleculares demuestran una clasificación de este género según su capacidad de termotolerancia: el grupo termófilo de la especie *R. microsporus* que puede crecer hasta los 45°C, un grupo complejo de las especies sub termófilas de *Amylomyces*–*R. oryzae* (37°–40°C) y el grupo mesófilo de *R. stolonifer* cuyo crecimiento se da a temperaturas menores de 37°C, siendo el principal agente causante de mucormicosis el grupo subtérmo-filo (Guarro, 2012; Mendoza et al., 2015).

Dentro del género *Mucor*, la especie *M. circinelloides* es la que representa un mayor porcentaje de incidencia en muestras clínicas. *M. circinelloides* es una especie ubicua, saprótrofa encontrada en los suelos, sus esporas se dispersan por medio del suelo, aire y alimentos. El porcentaje de mortalidad de una infección causada por esta especie varía entre el 68% al 100% dependiendo del estado del hospedero, al igual que ocurre en *Rhizopus*. Los sitios de infección varían entre los pulmones hasta el tracto gastrointestinal, aparte de ser una especie asociada con brotes de enfermedades en alimentos (Lee et al., 2014; Mendoza et al., 2015).

Dermatofitos: *Trichophyton*, *Microsporum*, y *Epidermophyton*

Los dermatofitos son un grupo de hongos patógenos que causan principalmente infecciones superficiales en humanos y otros mamíferos. Las enfermedades resultantes de una infección por este grupo de hongos se les conocen como tiñas y la locación de estas define la enfermedad, es decir: tinea corporis-en el torso, tinea pedis-en los pies, entre otros. Existen al menos 40 especies de dermatofitos capaces de infectar a los humanos, y muchos de estos hongos pueden causar infecciones en más de un solo lugar del cuerpo (Guarro, 2012; White et al., 2014).

Existen tres tipos de dermatofitos dependiendo de su ecología: antropofílicos, son especies que solo han sido encontradas en humanos y se asume que son humano-específicas, por lo que se transmiten de persona a persona, dentro de este grupo se encuentran especies del género *Trichophyton*, *T. rubrum* y *T. tonsurans*; Zoofílicos, son especies encontradas en humanos y animales, aquí se encuentran especies de los géneros *Microsporum*, *Trichophyton* y *Arthroderma*: *M. canis*, *T. equinum*, *T. verrucosum*, y *A. benhamiae*; Por último, las especies geofílicas, son aquellas encontradas en el suelo y ocasionalmente infectan animales y humanos, siendo *M. gypseum* un representante de este grupo (Behzadi et al., 2014; White et al., 2014).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

METODOLOGÍA

2.1 Procedencia de las muestras y diseño experimental

La presente propuesta se desarrolló como un estudio exploratorio-descriptivo orientado a la generación de datos experimentales. Para ello, se implementó una metodología de aislamiento de cepas fúngicas colectadas en 12 sitios de la Bahía de Panamá, provincia de Panamá (ver Figura 9 y Tabla 1). Se obtuvieron tanto hongos filamentosos como levaduras, los cuales fueron preservados en tubos inclinados con medio de cultivos PDA a 4°C y almacenados en el Laboratorio de Estudios Moleculares y Micología del Centro de Investigación e Información de Medicamentos y Tóxicos (CIIMET), Facultad de Medicina, bajo la coordinación de la Dra. Gesabel Navarro-Velasco.

Este trabajo se enmarca dentro de un megaproyecto más amplio titulado “*Detección molecular y análisis filogenético de virus, bacteriófagos, bacterias, hongos filamentosos y parásitos patógenos en aire y agua provenientes de la Bahía de Panamá*”, dirigido por el Dr. Alex O. Martínez (LAMEXA y LAMA, Universidad de Panamá) y financiado por el Fondo de Agua, Áreas Protegidas y Vida Silvestre.

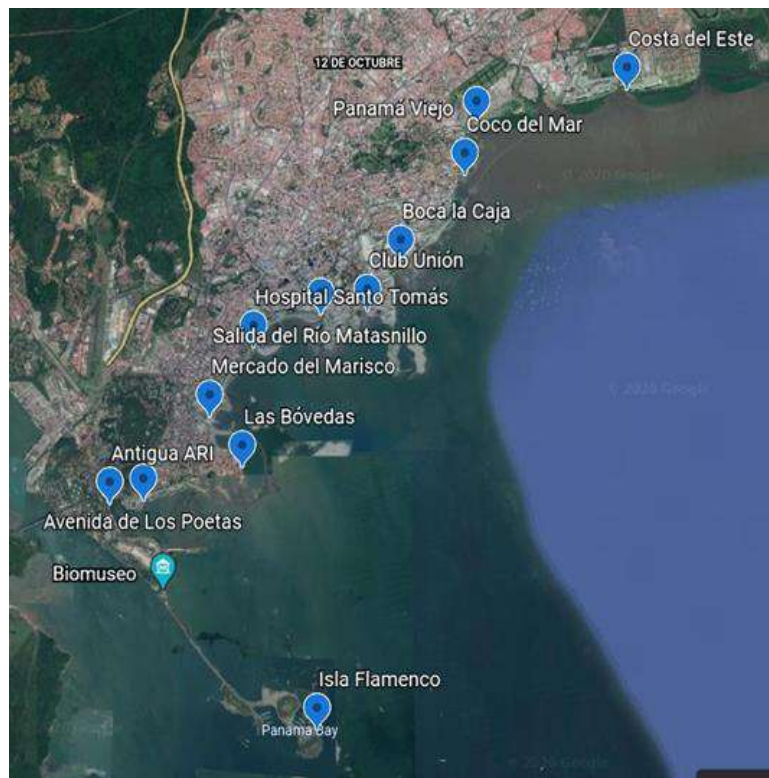


Figura 9. Sitios de Muestreo. Se presentan los 12 sitios de muestreo ubicados en la Bahía de Panamá. Estos puntos están distribuidos a lo largo de la zona costera, cubriendo el tramo comprendido entre la urbanización Costa del Este y la Calzada de Amador. Información proveniente del estudio “*Detección Molecular y Análisis Filogenético de Virus, Bacteriófagos, Bacterias, Hongos Filamentosos y Parásitos Patógenos en Aire y Agua provenientes de la Bahía de Panamá*”, de la Universidad de Panamá.

Tabla 1. Detalle de las características y condiciones ambientales de los 12 sitios de muestreo.

SITIOS DE MUESTREO		
ESTACIÓN	LUGAR DE COLECTA	DESCRIPCIÓN
1	Costa del Este	Ubicada en una urbanización residencial e industrial que lleva el mismo nombre, donde los niveles de basura en la zona costera son elevados, de oleaje tenue y sus aguas presentan una coloración oscura.
2	Panamá la Vieja	Ubicada entre la estatua Morelos y el Centro de Artesanías de Panamá Viejo, y presenta un oleaje fuerte, aguas oscuras y poca basura.
3	Coco del Mar	Se localiza en un sector de multifamiliares conocido como Coco del Mar, el oleaje es tenue y el agua es oscura con poca basura.
4	Boca la Caja	Se encuentra en el sector conocido con el mismo nombre y donde se localiza una pequeña comunidad de pescadores. Se caracteriza por presentar aguas oscuras, carecer de oleajes y basura.
5	Club Unión	Ubicada en el área de Paitilla, específicamente detrás del Club Unión en el lugar conocido como "La Rampa". Presenta un oleaje poco fuerte, aguas claras y libres de basura.
6	Salida del Río Matasnillo	Localizado en la Ave. Balboa en la desembocadura del río Matasnillo. Generalmente se perciben malos olores; además de presentar gran cantidad de basura y un oleaje poco fuerte.
7	Hospital Santo Tomás	Ubicado al frente del Monumento a Vasco Núñez de Balboa y cercano al Hospital del Niño. Presenta poca basura, oleaje fuerte y aguas oscuras.
8	Mercado del Marisco	Se localiza en la parte posterior del Mercado del Marisco de la Ave. Balboa. La estación se caracteriza por poseer aguas oscuras, mucha basura, mal olor y oleajes fuertes.
9	Las Bóvedas	La encontramos en el sector conocido como Casco Antiguo en el corregimiento de San Felipe, exactamente a un costado de la Plaza de Francia. Sus aguas son oscuras, sin basura, y de poco oleaje.
10	Avenida de los Poetas	Encontrado en la Ave. de los Poetas frente a la subestación de policía del Chorrillo. Sus aguas oscuras muchas veces utilizadas para recreación por moradores del área presentan oleajes algunas veces fuertes y de poco a nada de basura.
11	Antigua Autoridad de la Región Interoceánica (ARI),	Al inicio de la Calzada de Amador en la parte posterior a las oficinas de la Autoridad de la Región Interoceánica (ARI). Presenta aguas tranquilas y oscuras; con algo de vegetación y nada de basura.
12	Isla Flamenco	Esta estación se ubica dentro de la Calzada de Amador en la Isla Flamenco, exactamente en la parte posterior de los restaurantes. Presenta poca basura, aguas claras y oleaje tenue.

A continuación, se describen los procesos metodológicos involucrados en el estudio:

2.2 Preparación de medios

Las muestras previamente preservadas fueron proporcionadas para nuestro estudio que inicia con la preparación de medios de cultivo para la reactivación de las cepas. Se emplearon medios sólidos ricos en nutrientes, capaces de favorecer el crecimiento y recuperación de las cepas almacenadas.

Se utilizó agar papa dextrosa (PDA) por su versatilidad y alto contenido nutricional. La preparación de los medios se realizó en botellas de 250 mL siguiendo las instrucciones del fabricante (Merck Millipore), con modificaciones en la cantidad de medio y agua destilada. Para cada preparación se pesaron 9.75 g de PDA y se disolvieron en 250 mL de agua destilada. Las botellas se calentaron en microondas hasta alcanzar el punto de ebullición, asegurando la completa disolución del medio. Posteriormente, los frascos se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Una vez esterilizados, se trasladaron a una cámara de flujo laminar tipo II, donde se adicionaron 3,500 µL de ácido tartárico (10%) a cada botella, con el fin de inhibir el crecimiento bacteriano, siguiendo lo propuesto por Rhodes y Smith (1992).

El medio se vertió en placas Petri de 100 × 15 mm y, tras su solidificación, se almacenaron a 4°C.

2.3 Reactivación de cepas fúngicas almacenadas

Las cepas conservadas en tubos inclinados a 4°C se reactivaron mediante siembra en placas Petri con PDA y ácido tartárico. El procedimiento se efectuó en condiciones estériles, dentro de una cámara de flujo laminar tipo II.

Con una aguja estéril se tomó un trozo de micelio de cada tubo y se colocó en el centro de la placa Petri. Posteriormente, los platos se sellaron con Parafilm y se incubaron a 28°C con 55% de humedad relativa. El crecimiento fue monitoreado diariamente hasta confirmar la correspondencia entre las colonias desarrolladas y las de los tubos originales.

Una vez que las cepas presentaron estructuras morfológicas características, se procedió a sembrar cada aislamiento por triplicado, con el propósito de destinar un plato a observaciones macroscópicas, otro a observaciones microscópicas y el tercero a análisis moleculares. Los platos se incubaron nuevamente bajo las mismas condiciones.

2.4 Identificación morfológica

La identificación morfológica se basó en la evaluación de características macroscópicas y microscópicas de las colonias.

- **Identificación macroscópica:** se registraron parámetros como la tasa de crecimiento (rápido: 2–5 días; moderado: 6–10 días; lento: >10 días), presencia de micelio aéreo (abundante, moderado o limitado), textura de la colonia (afelpada, pulverulenta, aterciopelada, algodonosa, granulada, cartilaginosa, etc.), tinción del medio (presente/ausente), exudados (presente/ausente), forma del margen (liso, irregular, como filamentos, etc.), relieve (elevación/profundidad) y coloración del anverso y reverso. Posteriormente, cada colonia fue fotografiada en ambas vistas.
- **Identificación microscópica:** se aplicaron dos técnicas complementarias. La primera correspondió al montaje directo, en el cual un fragmento de colonia se colocó sobre un portaobjetos con dos gotas de azul de lactofenol, se cubrió con un cubreobjetos y se observó al microscopio. La segunda técnica consistió en el uso de cinta adhesiva: un trozo de cinta adhesiva se presionó suavemente sobre la colonia, se colocó sobre una gota de azul de lactofenol en el portaobjetos, se añadió una segunda gota del reactivo, se cubrió con cubreobjetos y se observó.

Las preparaciones fueron analizadas con un microscopio de campo claro LEICA DM750 equipado con cámara digital LEICA ICC50 HD. Las observaciones se realizaron inicialmente con el objetivo de 4× para localizar estructuras de interés, y posteriormente con los objetivos de 40× y 100× para capturar las estructuras con mayor detalle. Para la evaluación de las características microscópicas se tomaron en cuenta las estructuras anamórficas de cada cepa: Conidióforos: presencia/ausencia, tipo, color, tamaño, forma; Conidios: tipo, color, tamaño, forma, disposición; Clamidosporas: presencia/ausencia, color, forma, tamaño. Se examinaron las formas teleomórficas, para determinar las hifas vegetativas (color, forma). La identificación se apoyó en las guías *Soil and Seed Fungi* (Watanabe, 2002), *Géneros ilustrados de hongos imperfectos* (Barnett y Hunter, 1972) y literatura especializada en bases de datos públicas.

2.5 Identificación molecular

Las técnicas de extracción de ADN genómico (ADNg) se aplicaron en función de la textura de cada cepa utilizada para el proceso de identificación.

- **Extracción de ADNg en cepas pulverulentas**
En este caso se empleó la técnica de suspensión de esporas. A cada colonia se le adicionaron 3,000 µL de agua destilada estéril con ayuda de una micropipeta, y posteriormente las conidias fueron desprendidas mediante una espátula Drigalski. De la mezcla resultante se transfirieron aproximadamente 1,000 µL a tubos Eppendorf de 2 mL, los cuales se centrifugaron durante 10 minutos a 10,000 rpm. El sobrenadante fue eliminado y los pellets resultantes se sometieron a lavados sucesivos hasta obtener una muestra limpia. A partir de este punto se procedió a la extracción del ADNg siguiendo el protocolo del kit *Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep* (Cat. No. D6005, Zymo Research Corp., 2021).
- **Extracción de ADNg en cepas algodonosas a aterciopeladas**
Las cepas se inocularon en platos Petri con PDA y se incubaron a 28 °C y 55% de humedad relativa durante 7 a 10 días. El micelio obtenido fue transferido asépticamente a un mortero refrigerado y macerado con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino, el cual se almacenó a -80 °C en congeladores mecánicos de ultra baja temperatura (Hernández, 2003). Este material se sometió posteriormente a la extracción de ADNg siguiendo el protocolo del mismo kit mencionado anteriormente.
- **Evaluación de calidad del ADNg**
La pureza y concentración del ADNg se evaluaron con un espectrofotómetro UV-Visible BioSpec Nano (SHIMADZU). Además, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 0.7%, la cual se corrió a 70 V durante una

hora (ver Tabla 2). Finalizado el proceso, las bandas de ADN_g fueron visualizadas mediante un fotodocumentador UVP GelStudio (Analytik Jena).

Tabla 2. Preparación de las muestras cargadas con electroforesis en gel de agarosa al 0,7% para muestras de ADN_g.

	Loading Buffer 6X	Muestra	H ₂ O _{mq}
Marcador de Peso molecular. 1kb/amresco (VWR)	2 µL	5 µL de H ₂ O _{mq}	3 µL
Cepa 1	2 µL	2 µL de ADN _g	6 µL
Cepa 2...	2 µL	2 µL de ADN _g	6 µL
Volumen total del pocillo			10 µL

Amplificación por PCR punto final

Las muestras de ADN_g se analizaron mediante PCR punto final, utilizando dos regiones de interés: el espaciador transcrito interno (ITS) y la subunidad grande (LSU) (ver Tabla 3). El uso de ambas regiones permitió generar más de una secuencia y así obtener mayor información para su comparación con bases de datos disponibles (Brown et al., 2014). Este método de amplificación se aplicó a todas las muestras procesadas.

Tabla 3. Cebadores utilizados para la amplificación y secuenciación.

Locus	Primer	Dirección	Secuencia del cebador 5´-3´	Referencia
Región del Espaciador Transcrito Interno (ITS)	ITS 5	Forward	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	Raja et al., 2017
	ITS 4	Reverse	TCCTCCGCTTATTGATATGC	Raja et al., 2017
Subunidad Grande (LSU)	CLA-F	Forward	GCATTATTCATATTATATGCGGATGGAT	Christopher et al., 2021
	CLA-R	Reverse	GATCTCCTTGGTCCGTGTTTCAT	Christopher et al., 2021

Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador MyCycler (Bio-Rad), con un volumen final de 25 μ L por muestra. La mezcla de reacción incluyó: 100–200 ng de ADNg, 10 mM dNTPs (Bio-Rad), 5 U/ μ L de Taq ADN polimerasa (Invitrogen), 10 μ M de cada cebador, buffer PCR 10 \times y 50 mM de MgCl₂ (Invitrogen) (ver Tabla 4).

Tabla 4. Reactivos, concentración y cantidades utilizadas para realizar la amplificación de ADNg mediante PCR punto final.

Reactivos	Concentración Stock	Cantidad utilizada para 25 μ L
Buffer	10x	2,5 μ L
dNTP's	10mM	0,5 μ L
MgCl ₂	50mM	1,25 μ L
Cebador-rev	10 uM	0,6 μ L
Cebador-for	10 uM	0,6 μ L
Taq Polimerasa		0,125 μ L
H ₂ O _{mq}	-	17,925 μ L
ADNg	100-200 ng	1,5 μ L
Volumen total para un tubo de PCR		25 μL

Las condiciones de reacción se ajustaron de acuerdo con el kit *Taq DNA Polymerase Recombinante* (Invitrogen, Life Technologies), siendo distintas para cada par de cebadores (ver Tabla 5). La técnica de amplificación de las regiones ITS fue estandarizada por la Dra. Gesabel Navarro en el Laboratorio de Estudios Moleculares y Micología del Centro de Investigación e Información de Medicamentos y Tóxicos (CIIMET), Facultad de Medicina. Para las regiones LSU, se siguieron las condiciones propuestas por Christopher (2021), con modificaciones en la temperatura y tiempo de *annealing*.

Tabla 5. Programas utilizados para la amplificación.

Cebador	Desnaturalización inicial	Ciclos	Desnaturalización	Annealing	Elongación	Extensión Final	Reposo
ITS	94°C, 5 mins	32	94°C, 15 segs	56°C, 15 segs	72°C, 40 segs	72°C, 7 mins	4°C, ∞
LSU	95°C, 2 mins	40	95°C, 30 segs	58°C, 1 min	72°C, 90 segs	72°C, 5 mins	4°C, ∞

La confirmación del tamaño de los amplicones se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, corrida a 70 V durante 90 minutos (ver Tabla 6). Al finalizar,

las bandas de ADN_g se visualizaron con el fotodocumentador UVP GelStudio (Analytik Jena).

Tabla 6. Preparación de las muestras cargadas con electroforesis en gel de agarosa al 0,7% para muestras de productos de PCR.

	Loading Buffer 6X	Muestra	H ₂ O _{mq}
Marcador de Peso molecular. 1kb/amresco (VWR)	2 µL	5 µL de H ₂ O _{mq}	3 µL
Cepa 1	2 µL	4 µL de producto de PCR	4 µL
Cepa 2...	2 µL	4 µL de producto de PCR	4 µL
Volumen total del pocillo			10 µL

2.6 Secuenciación de productos de PCR

La secuenciación de los productos de PCR se realizó una vez confirmada la concentración y el tamaño esperado de los fragmentos de ADN_g de cada cepa. Los productos amplificados fueron enviados a la empresa Macrogen (Seúl, Corea del Sur) para su análisis.

Se utilizó la técnica de secuenciación Sanger como criterio de control de calidad de las secuencias obtenidas para cada cebador. Las secuencias se generaron en ambas direcciones (*forward* y *reverse*).

2.7 Construcción de árboles filogenéticos

Las secuencias obtenidas fueron editadas y ensambladas utilizando el programa Geneious Prime y la herramienta *Align/Assemble – De Novo Assemble*. Posteriormente se generaron las secuencias consenso con la herramienta *Generate Consensus Sequence*.

Las secuencias consenso fueron analizadas mediante la herramienta BLASTn, utilizando los parámetros predeterminados de la plataforma. Se seleccionaron las especies con mayor porcentaje de identidad, las cuales fueron empleadas en la construcción de los árboles filogenéticos.

El alineamiento de las secuencias se realizó con la herramienta *Multiple Alignment – MAFFT* integrada en Geneious Prime. Los árboles filogenéticos se construyeron utilizando el programa IQ-TREE v3 (Wong et al., 2025). Posteriormente, se determinaron los modelos de sustitución más adecuados mediante el comando ModelFinder, incorporado en IQ-TREE.

La inferencia filogenética se llevó a cabo empleando el método de Maximum Likelihood (ML), con un soporte estadístico obtenido a partir de 1000 réplicas de bootstrap. Finalmente, los árboles obtenidos fueron editados y visualizados en el programa FigTree v1.4.4 y Geneious Prime.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS

3.1 Identificación morfológica

Se obtuvieron un total de 528 cepas de hongos filamentosos, agrupadas en aproximadamente 100 morfotipos y 16 cepas de levaduras. De los hongos filamentosos aislados de muestras de aire se escogieron y reactivaron 27 cepas al azar, que presentarán características distintas en textura y color para estudios detallados (ver Figura 10).

La identificación morfológica se realizó en base a las características macroscópicas y microscópicas de cada una de las cepas seleccionadas.

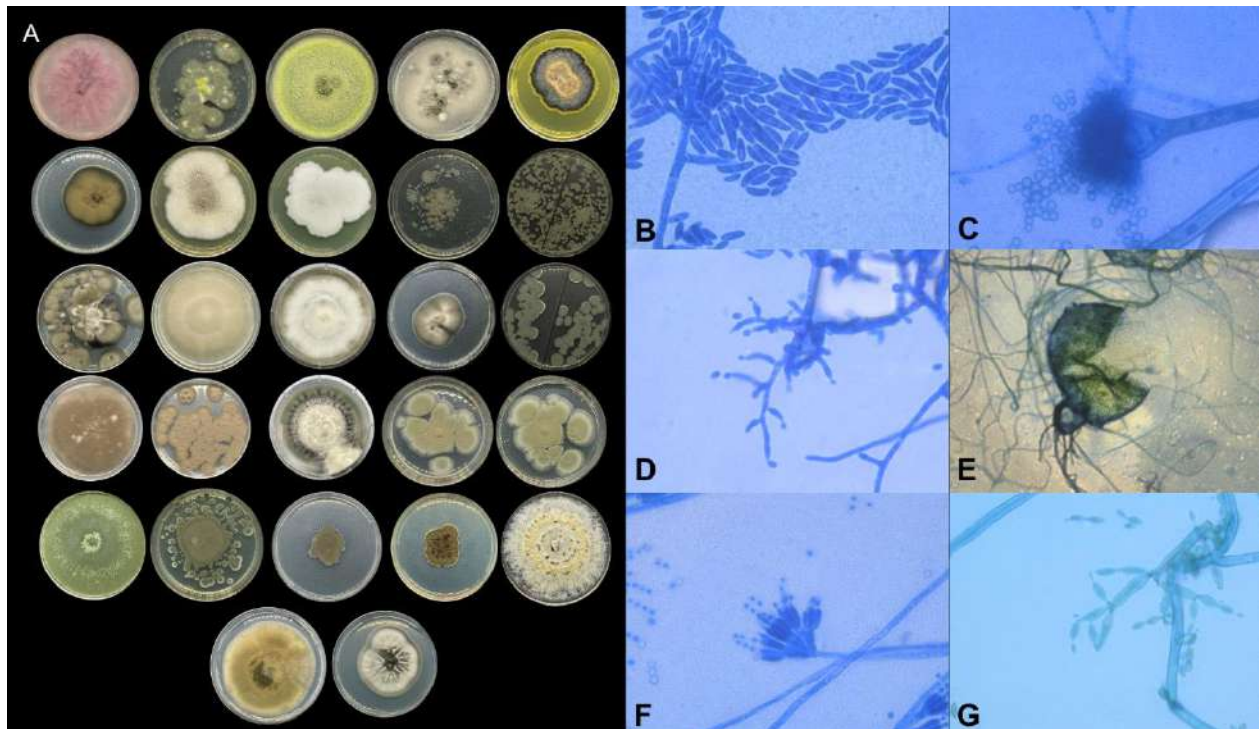


Figura 10. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas de hongos aislados provenientes de bioaerosoles de la Bahía de Panamá. (A) Colonias de las cepas analizadas en platos de Petri con PDA+AT. (B) Macroconidias y microconidias del género *Fusarium* (100x). (C) Conidiación tipo *Aspergillus* (100x). (D) Conidiación tipo *Trichoderma* (100x). (E) Picnidio en género *Allophoma* (100x). (F) Conidiación tipo *Penicillium* (100x). (G) Conidiación tipo *Cladosporium* (100x).

3.1.1 Identificación por características macroscópicas

La caracterización macroscópica se realizó por medio del crecimiento de las cepas en platos Petri con medio PDA, incubados a 26°C y humedad relativa del 55%. Las características analizadas incluyeron: tasa de crecimiento, micelio aéreo, textura, presencia/ausencia de exudados y tinción del medio.

En relación con la **tasa de crecimiento**, el 67 % de las cepas (18 cepas) presentó un crecimiento rápido (2–5 días), el 22 % (6 cepas) mostró un crecimiento moderado (6–10 días) y el 11 % restante (3 cepas) evidenció un crecimiento lento (>10 días) (ver Figura 11).

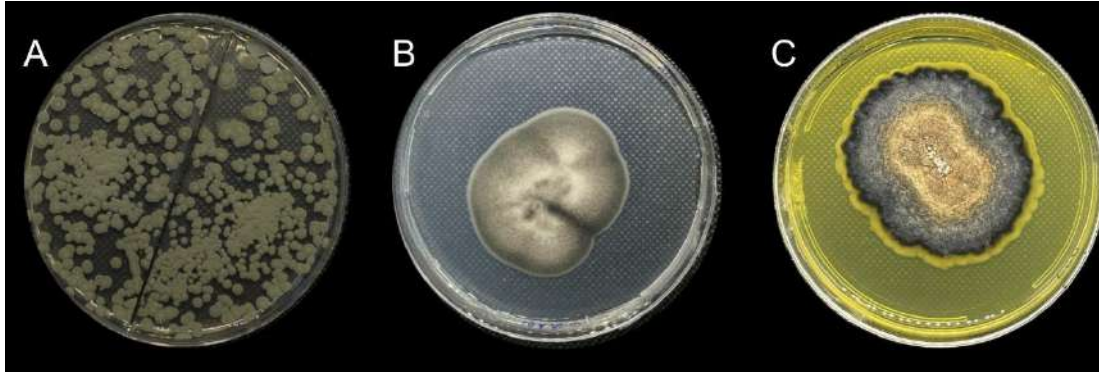


Figura 11. Tasa de crecimiento de las cepas. Se observan ejemplos representativos de las distintas tasas de crecimiento observadas. (A) Crecimiento rápido (invasivo). (B) Crecimiento moderado. (C) Crecimiento lento.

Por otro lado, como se puede observar en las figuras 12 y 13, dos de las cepas que presentaron una tasa de crecimiento lento demostraron cambios en la colonia pasado los 15 días de incubación.

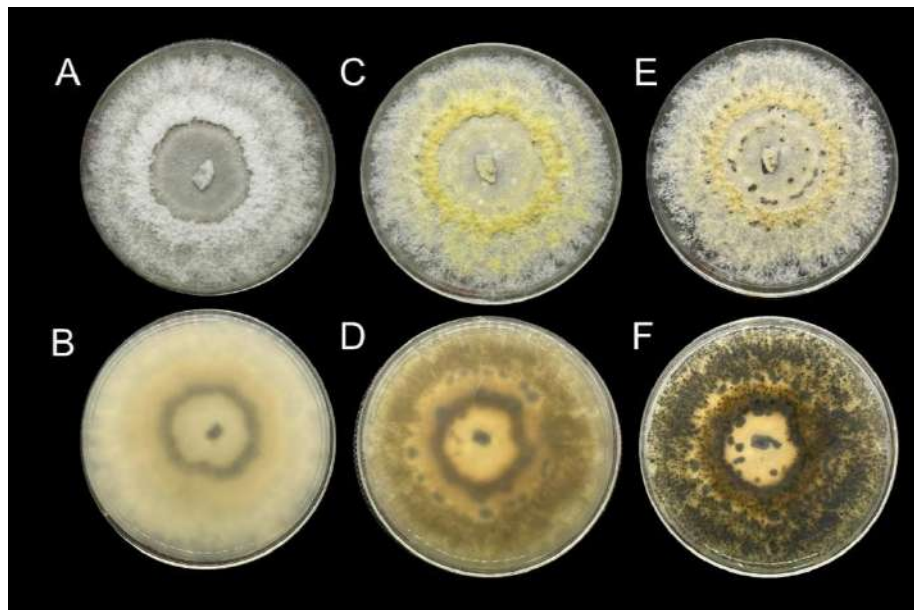


Figura 12. Tasa de crecimiento lento. La cepa 266 Ai desarrolló cambios de coloración y estructuras inmersas en el agar después de 30 días de incubación. (A-B): 15 Días de crecimiento. (C-D): 30 Días de crecimiento. (E-F): 45 Días de crecimiento.

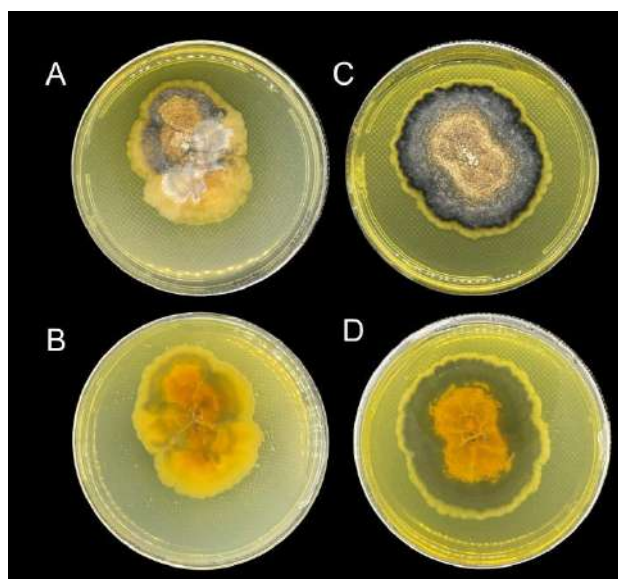


Figura 13. Tasa de crecimiento lento. La cepa 63 Ai desarrolló cambios de coloración, textura y pigmentación del agar después de 15 días de incubación. (A-B): 10 Días de crecimiento. (C-D): 15 Días de crecimiento.

Respecto al **micelio aéreo**, el tipo limitado fue el más frecuente, observado en el 74% de las cepas (20 cepas). El micelio moderado se registró en el 22% (6 cepas), mientras que el micelio abundante se observó únicamente en una de las cepas (4%) (ver Figura 14.)

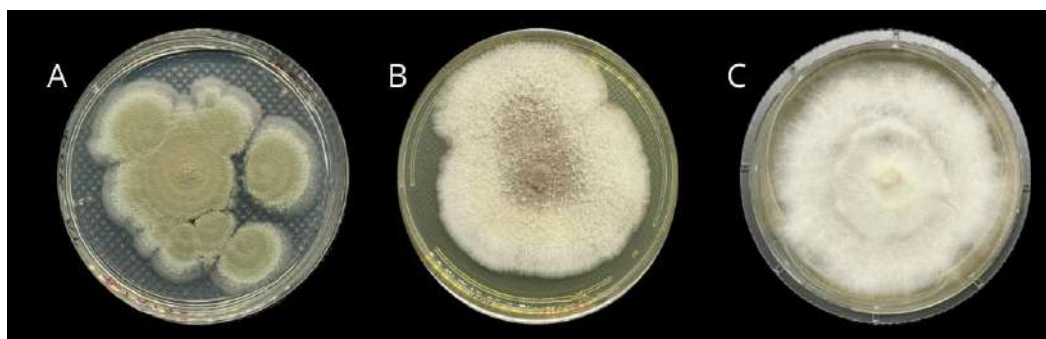


Figura 14. Micelio aéreo. Se observan ejemplos representativos de los distintos tipos de micelio aéreo observados. (A) Micelio aéreo limitado. (B) Micelio aéreo moderado. (C) Micelio aéreo abundante.

Entre otra de las características macroscópicas estudiadas se encuentra la **textura de las colonias**. Existen distintos tipos de texturas como lo son: afelpada, pulverulenta, aterciopelada, algodonosa, granulada, y cartilaginosa (ver Figura 15). Particularmente entre las cepas estudiadas la textura pulverulenta fue la predominante con un 33% (9 cepas), seguido por la textura afelpada y aterciopelada, con un 30% (8 cepas) y 22% (6 cepas) respectivamente, la textura algodonosa por otro lado se vio presente en un 11% (3 cepas) de las muestras, y, por último, se

observaron otras texturas con una sola cepa como representante como lo es el caso de la textura granulada (4%).

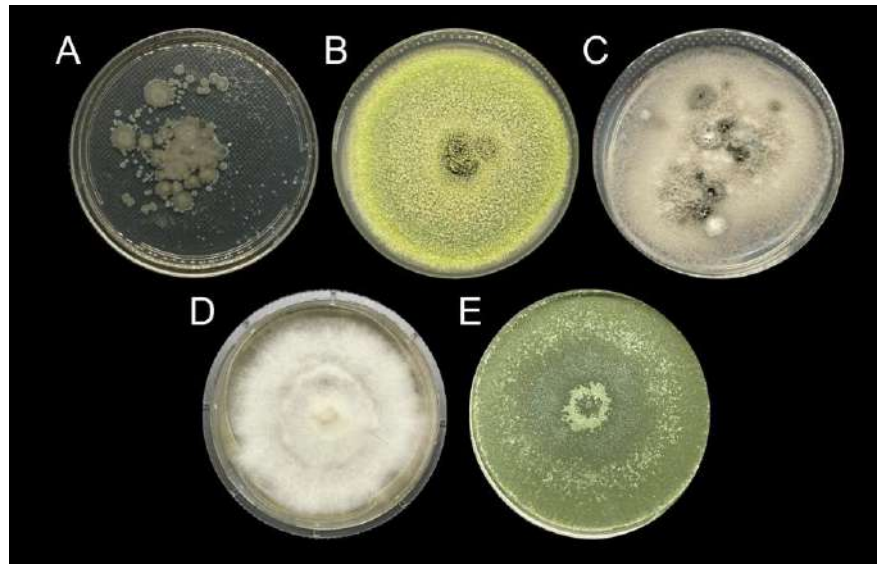


Figura 15. Textura de las colonias. Se observan ejemplos representativos de cada una de las texturas observadas. (A) Pulverulenta. (B) Afelpada. (C) Aterciopelada. (D) Algodonosa. (E) Granulada.

En cuanto a la **pigmentación (difusión del agar) del medio** solamente el 18% (5 cepas) de las muestras lo presentaron, mientras que un 82% (22 cepas) no pigmentó el agar. En la figura 16 se muestran tres ejemplos de cepas que desarrollaron una difusión en el agar del medio de cultivo.

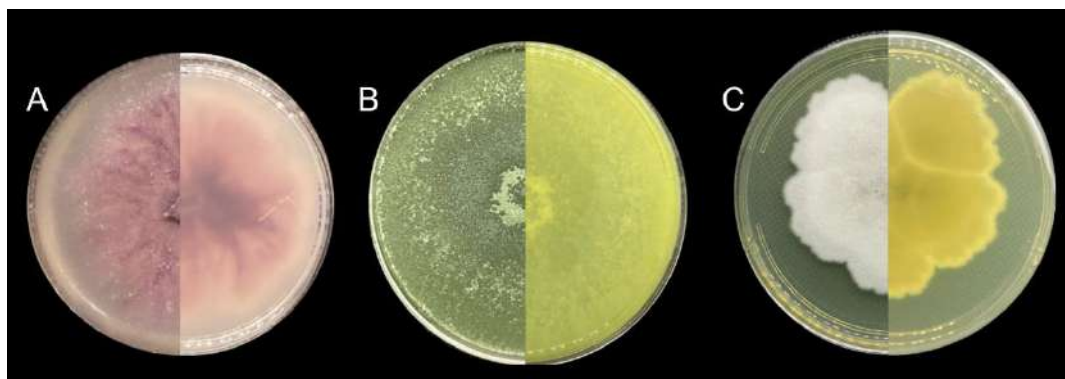


Figura 16. Tinción del medio. Se muestran ejemplos representativos de distintas cepas que pigmentan el medio de cultivo. (A) Anverso y reverso difusión del medio color magenta. (B) Anverso y reverso difusión del medio color amarilla. (C) Anverso y reverso ligeramente una difusión del medio de color amarillo.

Respecto a la **presencia de exudados**, el 33% de las cepas (9 cepas) desarrolló exudados después de 7 días de incubación, los cuales presentaron colores como marrón, negro, amarillo o por lo contrario no presentaban ningún color. El 67% restante (18 cepas) no produjo exudados visibles (ver Figura 17).

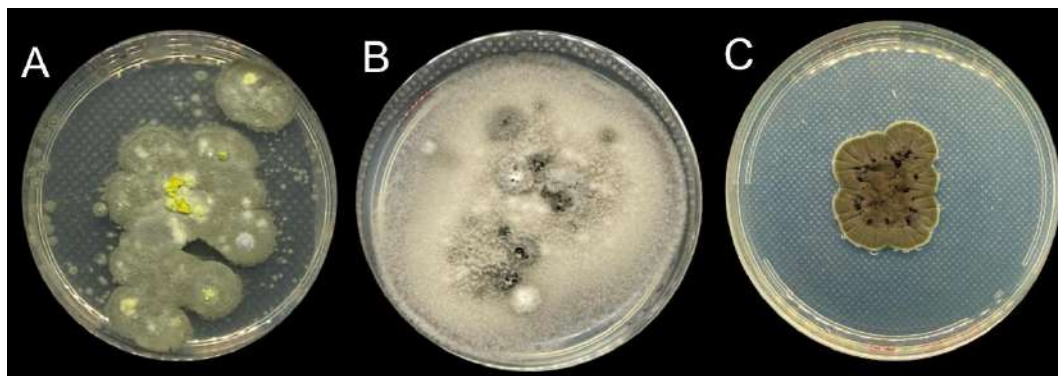


Figura 17. Presencia de exudados. Se observan ejemplos representativos de distintos tipos de exudados. (A) Exudado amarillo. (B) Exudado negro. (C) Exudado marrón.

La siguiente tabla resume los resultados obtenidos en el análisis de las características macroscópicas de las cepas estudiadas.

Tabla 7. Caracterización macroscópica de 27 cepas fúngicas aisladas del aire.

CARACTERÍSTICA	CATEGORÍA	Nº DE CEPAS	PORCENTAJE (%)
Tasa de crecimiento	Rápida (2–5 días)	18	67 %
	Moderada (6–10 días)	6	22 %
	Lenta (>10 días)	3	11 %
Micelio aéreo	Limitado	20	74 %
	Moderado	6	22 %
	Abundante	1	4 %
Textura	Pulverulenta	9	33 %
	Afelpada	8	30 %
	Aterciopelada	6	20 %
	Algodonosa	3	11 %
	Granulada	1	4 %
Pigmentación del medio	Presente	5	18 %
	Ausente	22	82 %
Presencia de exudados	Presente	9	33 %
	Ausente	18	67%

A continuación, se presentan las imágenes del anverso y reverso de cada una de las cepas analizadas, donde pueden apreciarse sus características macroscópicas. Posteriormente, se incluye una tabla descriptiva que detalla cada uno de estos rasgos (Ver Figura 18, 18.1, 18.2, 18.3, 18.4 y Tabla 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4).

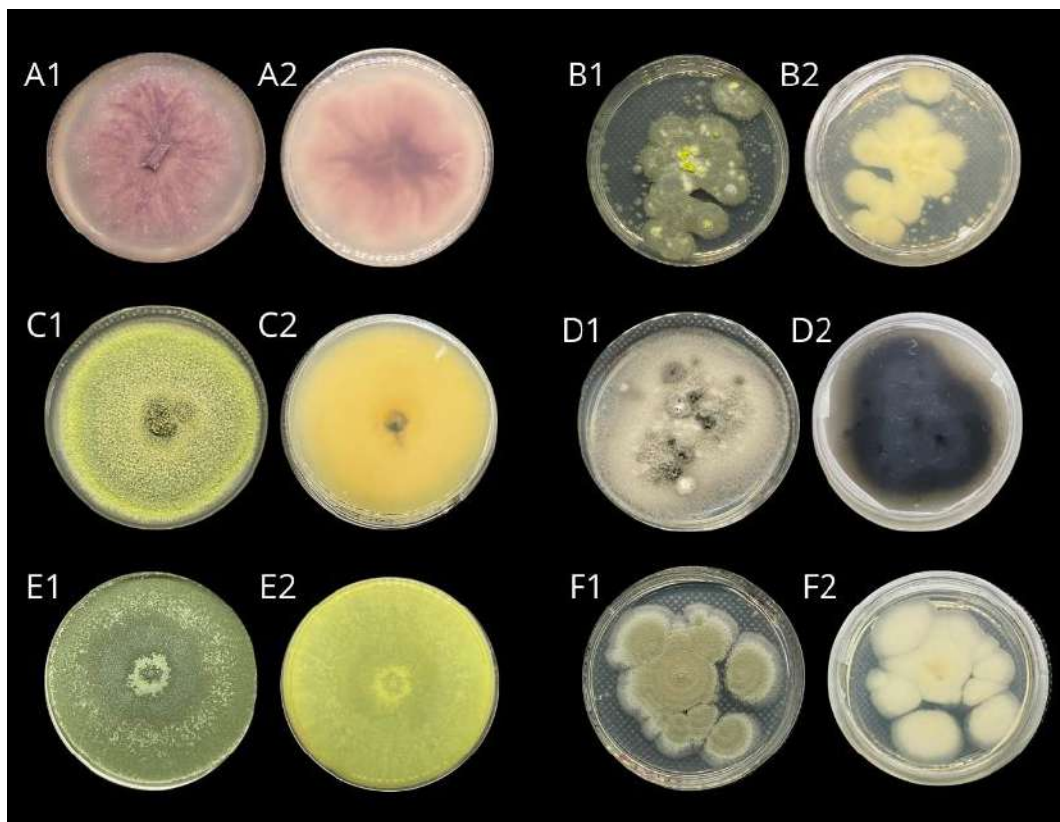


Figura 18. Morfología macroscópica de las cepas de hongos estudiados. Crecimiento de las cepas en platos de Petri en medio de cultivo en PDA (anverso y reverso), tiempo de incubación durante un período de 3 a 10 días, a una temperatura de 25-28°C y 55% de humedad relativa.

Tabla 8. Descripción de las características morfológicas de las cepas de hongos estudiados.

		CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	
Cepa		Anverso (a)	Reverso (b)
1a-1b	164 Aib	Colonia de color magenta con tonalidades rosa, de textura algodonosa y micelio aéreo abundante los primeros días de crecimiento, márgenes irregulares como raíces	De color magenta en la parte central y blanco en el resto de la colonia, sin crecimiento dentro del medio, pigmenta el medio de color rosa
2a-2b	023 Ai	Colonia de color verde oliva con sitios de color blanco, gris y amarillo, de micelio aéreo limitado, textura pulverulenta, márgenes irregulares y presencia de exudados de color amarillo	De color crema, no crece dentro del agar
3a-3b	112 AiA	Colonia de color verde en la su mayoría y tonalidad amarilla acercándose a los extremos, micelio aéreo limitado, textura afelpada a pulverulenta, de márgenes irregulares como filamentos y presencia de exudados traslucidos	De color amarillo a naranja, sin crecimiento dentro del medio, pigmenta el medio de color naranja
4a-4b	309 Ai	Colonia de color gris, con sitios de color blanco y gris más oscuro, presenta una textura afelpada a aterciopelada, márgenes irregulares y presencia de exudados de color negro	De color negro en su mayoría, márgenes de una tonalidad grisácea más clara, sin crecimiento dentro del medio
5a-5b	61 Ai	Colonia de color verde, de textura granulada a pulverulenta, márgenes irregulares y patrón de crecimiento concéntrico	De color amarillo con tonalidades verdosas, pigmenta el medio de color amarillo
6a-6b	64 Ai	Colonia de color verde oliva, de textura pulverulenta, márgenes irregulares y de una tonalidad más clara, presenta un patrón de crecimiento concéntrico	De color crema a blanco

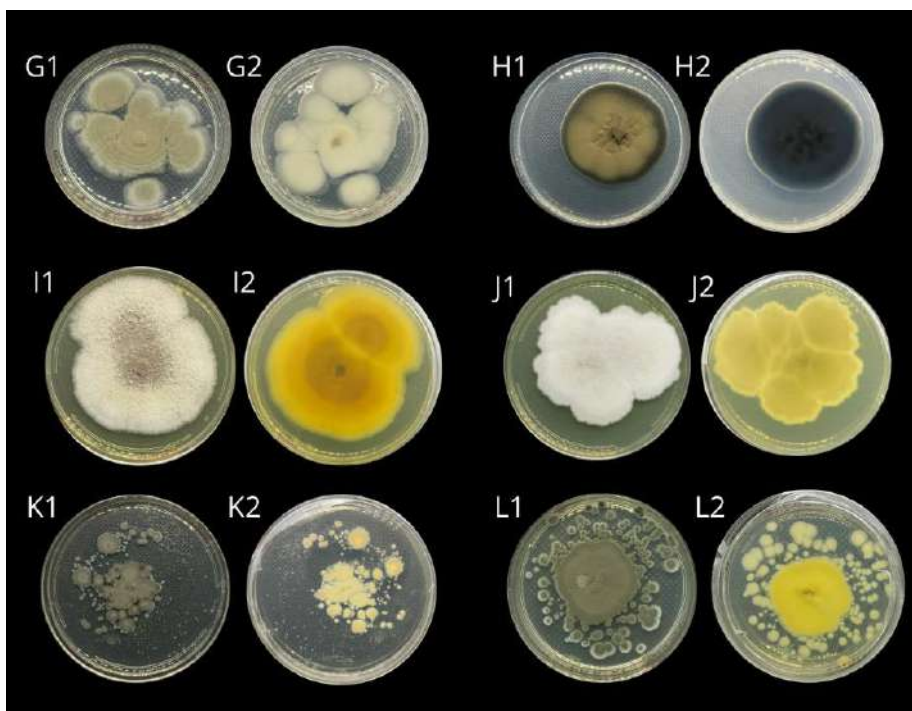


Figura 18.1. Morfología macroscópica de las cepas de hongos estudiados. Continuación.

Tabla 8.1. Descripción de las características morfológicas de las cepas de hongos estudiados.
CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

Cepa		Anverso (a)	Reverso (b)
7a-7b	47 Ai	Colonia de color verde oliva, de textura pulverulenta, márgenes irregulares y de una tonalidad más clara, presenta un patrón de crecimiento concéntrico	De color crema a blanco
8a-8b	171 Ai	Colonia de color café en su mayoría, al acercarse a los márgenes se torna de color verde oliva oscuro y el margen es de un tono blanquecino, de textura pulverulenta a aterciopelada, la superficie es lisa a excepción de la parte central de la colonia que presenta pliegues, se observa un patrón de crecimiento concéntrico	De color negro y margen blanco, la parte central se encuentra inmersa en el agar
9a-9b	037 Ai	Colonia de color café en la región central y blanco en el resto, textura pulverulenta a afelpada, micelio aéreo con crecimiento moderado, presenta exudados traslucidos y sus márgenes son irregulares como filamentos	De color amarillo oscuro, se observa un patrón de crecimiento concéntrico y pigmenta el medio de color amarillo
10a-10b	244 Ai	Colonia de color blanco, márgenes irregulares como filamentos, micelio aéreo moderado, textura pulverulenta a afelpada y presencia de exudados traslucidos	De color amarillo, márgenes de una tonalidad más clara y pigmenta el medio de color amarillo
11a-11b	24 Ai	Colonia de color verde oliva, márgenes irregulares, de textura pulverulenta y micelio aéreo limitado	De color crema a blanco
12a-12b	20 Ai	Colonia de color verde oliva, márgenes irregulares, de textura pulverulenta y micelio aéreo limitado	De color amarillo a crema

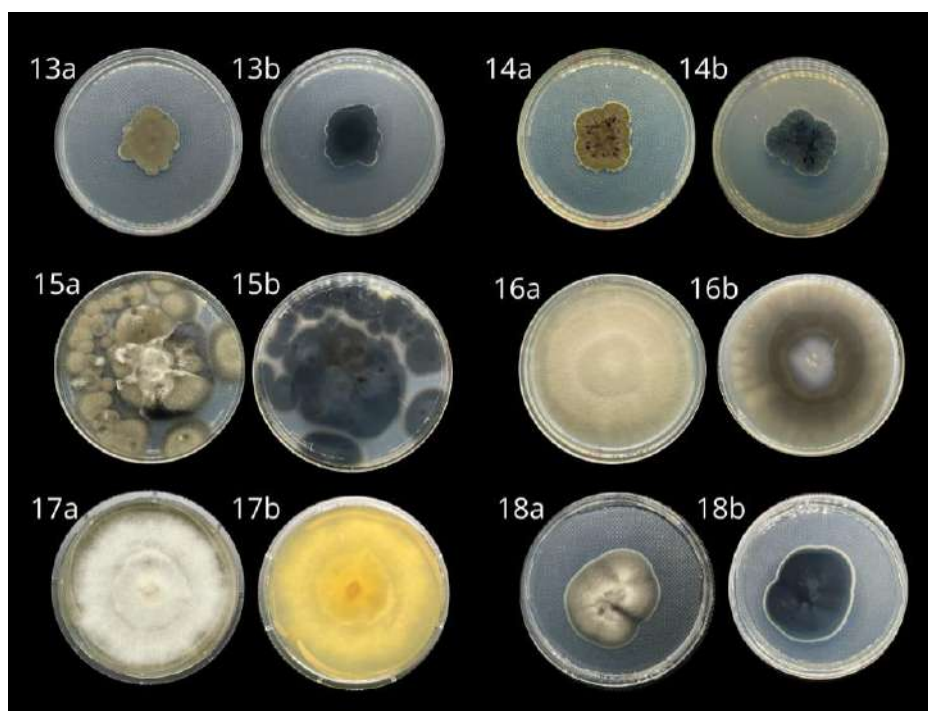


Figura 18.2. Morfología macroscópica de las cepas de hongos estudiados. Continuación.

Tabla 8.2. Descripción de las características morfológicas de las cepas de hongos estudiados.

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

Cepa		Anverso (a)	Reverso (b)
13a-13b	17 Ai	Colonia de color verde oliva, de textura pulverulenta a aterciopelada, micelio aéreo limitado y márgenes irregulares de una tonalidad más clara	De color negro y margen blanco
14a-14b	17 Aia	Colonia de color verde oliva con tonalidades café, micelio aéreo limitado, de textura aterciopelada a pulverulenta, márgenes irregulares de una tonalidad clara, presenta exudados de color marrón y pliegues en toda su superficie	De color negro y márgenes blanquecinos, la colonia presenta crecimiento dentro del agar
15a-15b	17 Aid	Colonia de color gris a café, micelio aéreo moderado de textura afelpada, márgenes irregulares, presenta exudados traslucidos y una ligera elevación en la parte central de la colonia	De color negro a café oscuro
16a-16b	166 Ai	Colonia de color gris, micelio aéreo moderado de textura afelpada, márgenes irregulares como filamentos, presenta una elevación en la parte central de la colonia	De color gris a café
17a-17b	009 Ai	Colonia de color blanco, micelio aéreo abundante de textura algodonosa, márgenes irregulares como filamentos, presencia de exudados traslucidos en la superficie	De color crema a amarillo
18a-18b	104 Ai	Colonia de color blanco a gris, micelio aéreo limitado de textura que va de aterciopelada a afelpada, márgenes lisos de una tonalidad blanquecina	De color negro y margen grueso blanco, la colonia esta ligeramente inmersa en el agar en la región central de la colonia

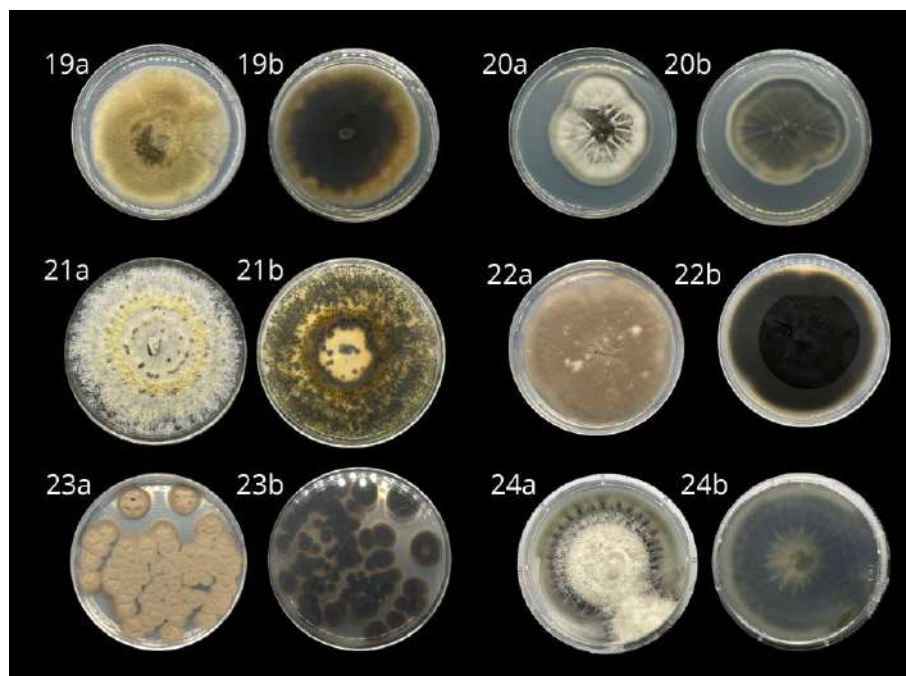


Figura 18.3. Morfología macroscópica de las cepas de hongos estudiados. Continuación.

Tabla 8.3. Descripción de las características morfológicas de las cepas de hongos estudiados.

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS			
Cepa		Anverso (a)	Reverso (b)
19a-19b	66 Ai	Colonia de color verde café a crema, micelio aéreo limitado de textura afelpada a pulverulenta, márgenes irregulares como filamentos, presenta exudados traslucidos, desarrollo de estructuras sólidas de color negro inmersas parcialmente en la superficie del agar	De color negro a café
20a-20b	15 Ai	Colonia de negro a gris con tonalidades verde oliva, micelio aéreo limitado de textura cartilaginosa a vellosa en la parte central de la y aterciopelada en el resto de la colonia, márgenes irregulares de una tonalidad más clara, se presenta una elevación en el centro y se presentan hendiduras radiales en la superficie	De color verde oliva oscuro, márgenes blanquecinos con hendiduras radiales inmersas en el agar
21a-21b	266 Ai	Colonia de color amarillo a blanco en su mayoría, micelio aéreo moderado de textura algodonosa a afelpada, márgenes irregulares como raíces, presencia de exudados traslucidos y amarillos, desarrollo de estructuras sólidas y negras inmersas en la superficie	De color crema, café y negro, se ve un claro crecimiento de la colonia dentro del agar, desarrollo de estructuras solidas negras
22a-22b	31 Ai	Colonia de color a café, micelio aéreo limitado de textura afelpada a pulverulenta, márgenes irregulares como filamentos	De color negro y márgenes crema, centro de la colonia inmersa en el agar
23a-23b	075 Ai	Colonia de color café a verde oliva, micelio aéreo limitado de textura pulverulenta, márgenes irregulares como filamentos y ligeros pliegues en la superficie de la parte central de la colonia	De color negro y márgenes café, centro de la colonia inmersa en el agar
24a-24b	28 Ai	Colonia de color gris a verde oliva, micelio aéreo limitado de textura aterciopelada, márgenes irregulares que presentan hendiduras radiales y elevación en la región central de la colonia	De color crema a negro, se presenta patrón de crecimiento radial y crece dentro del agar



Figura 18.4. Morfología macroscópica de las cepas de hongos estudiados. Continuación.

Tabla 8.4. Descripción de las características morfológicas de las cepas de hongos estudiados.
CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

Cepa		Anverso (a)	Reverso (b)
25a-25b	203 Ai	Colonia de color verde oliva, micelio aéreo limitado de textura pulverulenta, y márgenes irregulares de una tonalidad más clara	De color amarillo a crema
26a-26b	12 Ai	Colonia de color verde oliva, micelio aéreo limitado de textura pulverulenta, y márgenes irregulares	De color crema a blanco
27a-27b	63 Ai	Colonia de color amarillo a negro/gris, micelio aéreo limitado de textura cartilaginosa los primeros días de crecimiento seguido por una textura aterciopelada, márgenes irregulares	De color amarillo en la región central y negro en el resto de la colonia, márgenes gruesos blanquecinos, crecimiento dentro del medio y pigmentación del agar de color amarillo

3.1.2 Identificación por características microscópicas

La caracterización microscópica se realizó por medio de montaje directo y montaje en cinta adhesiva. Se evaluaron las distintas estructuras anamórficas como el tipo de conidiación, forma de las conidias, tipo de hifas y presencia de otras estructuras.

Las observaciones mediante microscopía revelaron que el 52% de las muestras (14 cepas) presentaron hifas hialinas, las cuales el 64% (9 cepas) eran de tipo aseptadas y el 36% restante (5 cepas) presentaron septos. Por otro lado, el 48% de las cepas totales (13 cepas) presentaron hifas melanizadas y septadas, dando un total del 67% de muestras (18 cepas) con hifas septadas y un 33% (9 cepas) de hifas aseptadas (ver Figura 19).



Figura 19. Características microscópicas de las hifas. Se muestran ejemplos representativos de las hifas. (A) Hifas melanizadas, septadas (100x). (B) Hifas hialinas, aseptadas (100x). (C) Hifas hialinas aseptadas (40x).

Por otro lado, se observó el desarrollo de estructuras melanizadas de pared gruesa con un tipo de conidiación *Cladosporium* en un 37% de las cepas analizadas (10 cepas), asimismo se reveló que el 30% de las cepas (7 cepas) presentaron estructuras reproductivas características del género *Penicillium*. Otros géneros identificados fueron *Aspergillus* (2 cepas), *Fusarium* (1 cepa), *Trichoderma* (1 cepa), *Talaromyces* (1 cepa), *Allophoma* (1 cepa), *Diaporthe* (1 cepa), *Pyrenochaetopsis* (1 cepa), y *Phaeosphaeria* (1 cepa). En la figura 20 se muestran los conidióforos característicos de distintos géneros identificados.

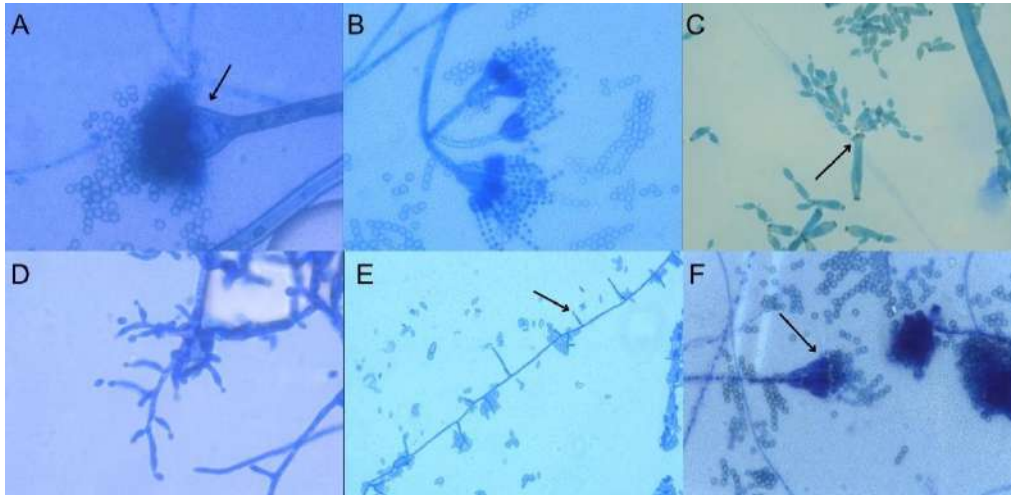


Figura 20. Características microscópicas de los conidióforos. Se muestran ejemplos representativos de los distintos conidióforos encontrados. (A) Conidióforo de *Aspergillus*, se observa la vesícula y conidias pequeñas y redondas (100x). (B) Conidióforo de *Penicillium* (100x). (C) Conidióforo de *Cladosporium*, se observa el escudo y conidios con cicatrices (100x). (D) Conidióforo de *Trichoderma*, estructura clásica en forma de “Jack” (100x), (E) Monofálide de *Fusarium* (100x). (F) Conidióforo de *Talaromyces* (100x).

Como se observa en la figura 21, se lograron observar distintos tipos de conidias, estas estructuras en conjunto con los conidióforos son de suma importancia al momento de identificar taxonómicamente a los hongos.

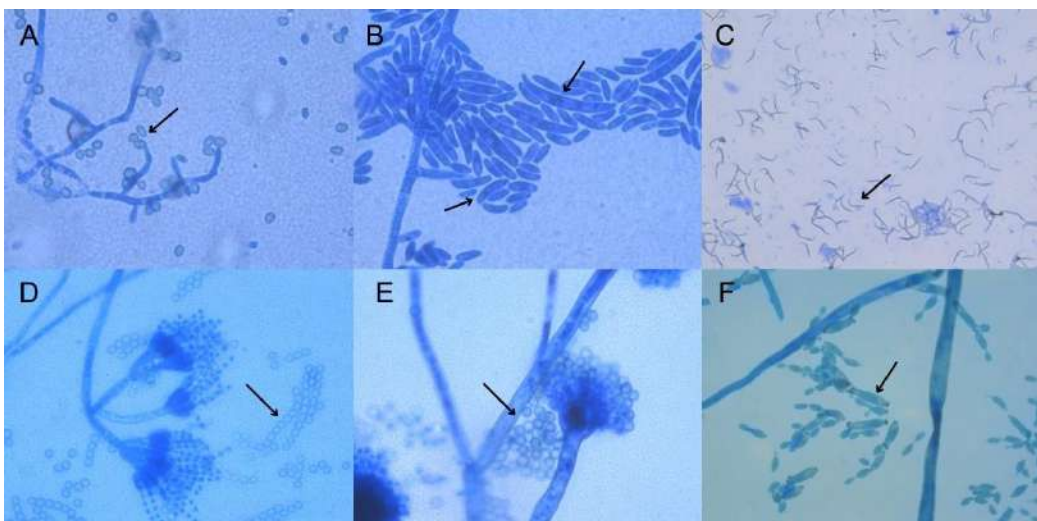


Figura 21. Características microscópicas de las conidias. (A) Conidias de forma redondas a elípticas de color verde pálido encontradas en *Trichoderma* (100x). (B) Conidias de *Fusarium*, se señalan macroconidas alargadas en forma de medialuna y microconidas de forma elíptica a ovaladas (100x). (C) Conidias betas encontradas en el género *Diaporthe*, fusiformes, lisas y de ápice curvado (40x). (D) Conidias redondas, abundantes, dispuestas en cadena en el género *Penicillium* (100x). (E) Conidias abundantes, redondas y ligeramente rugosas en el género *Aspergillus* (100x). (F) Conidias pequeñas con cicatrices, dispuestas en cadena y ovaladas presentes en *Cladosporium* (100x).

A su vez, también se observaron otras estructuras de interés que ayudaron a identificar con mayor facilidad las cepas estudiadas como se muestran en la figura 22.

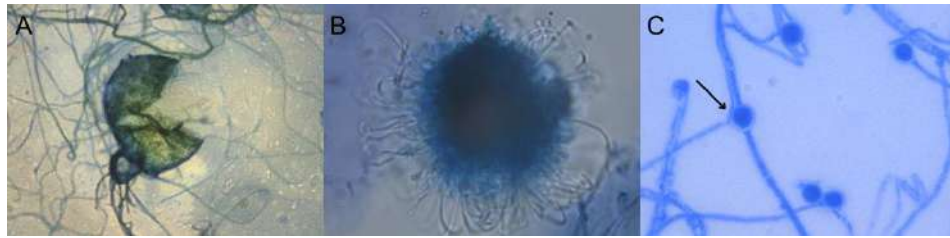


Figura 22. Características microscópicas de estructuras de interés. (A) Picnidio encontrado en el género *Allophoma* (100x). (B) Picnidio encontrado en el género *Diaporthe* (100x). (C) Clamidosporas inercalaeres y terminales encontradas en el género *Trichoderma* (100x).

A continuación, se presentan imágenes de las características microscópicas de cada una de las cepas estudiadas, donde se observan sus estructuras reproductivas, conidias e hifas, seguido de una tabla descriptiva donde se detallan estos caracteres (Ver Figura 23, 23.1, 23.2 y Tabla 9).

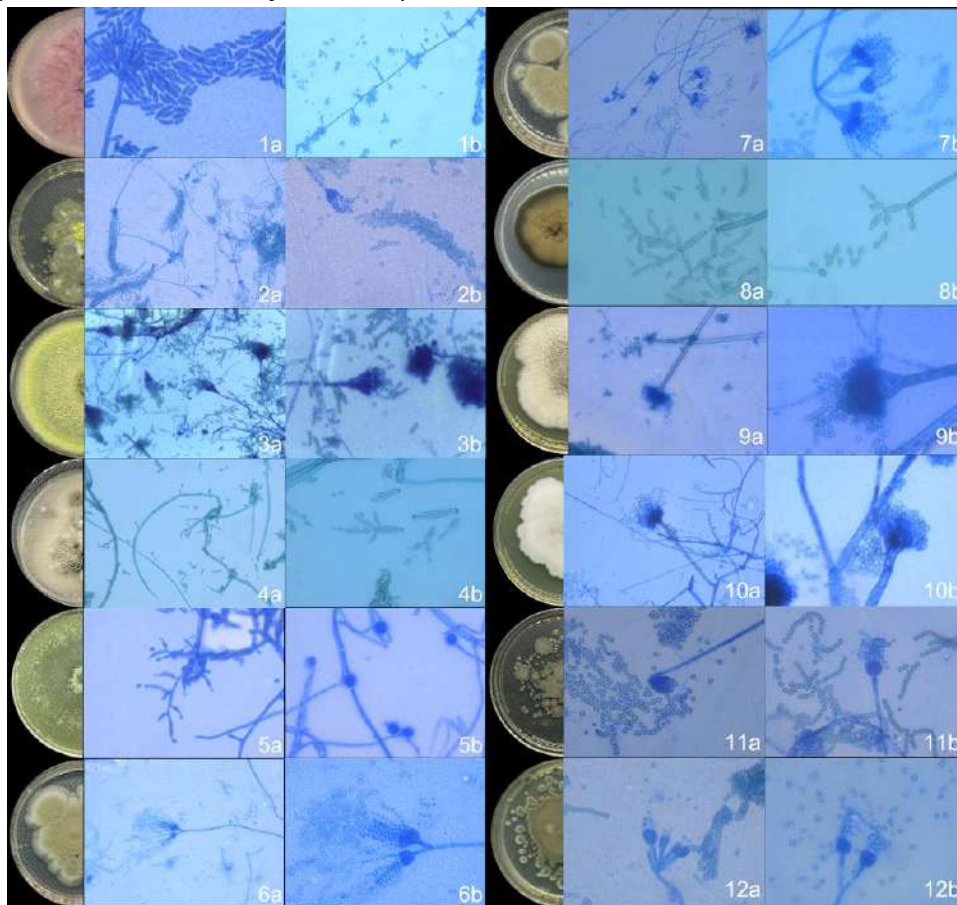


Figura 23. Morfología microscópica de las cepas de hongos estudiados. Crecimiento de las cepas en platos de Petri en medio de cultivo en PDA (anverso y reverso), tiempo de incubación durante un período de 3 a 10 días, a una temperatura de 25-28°C y 55% de humedad relativa.

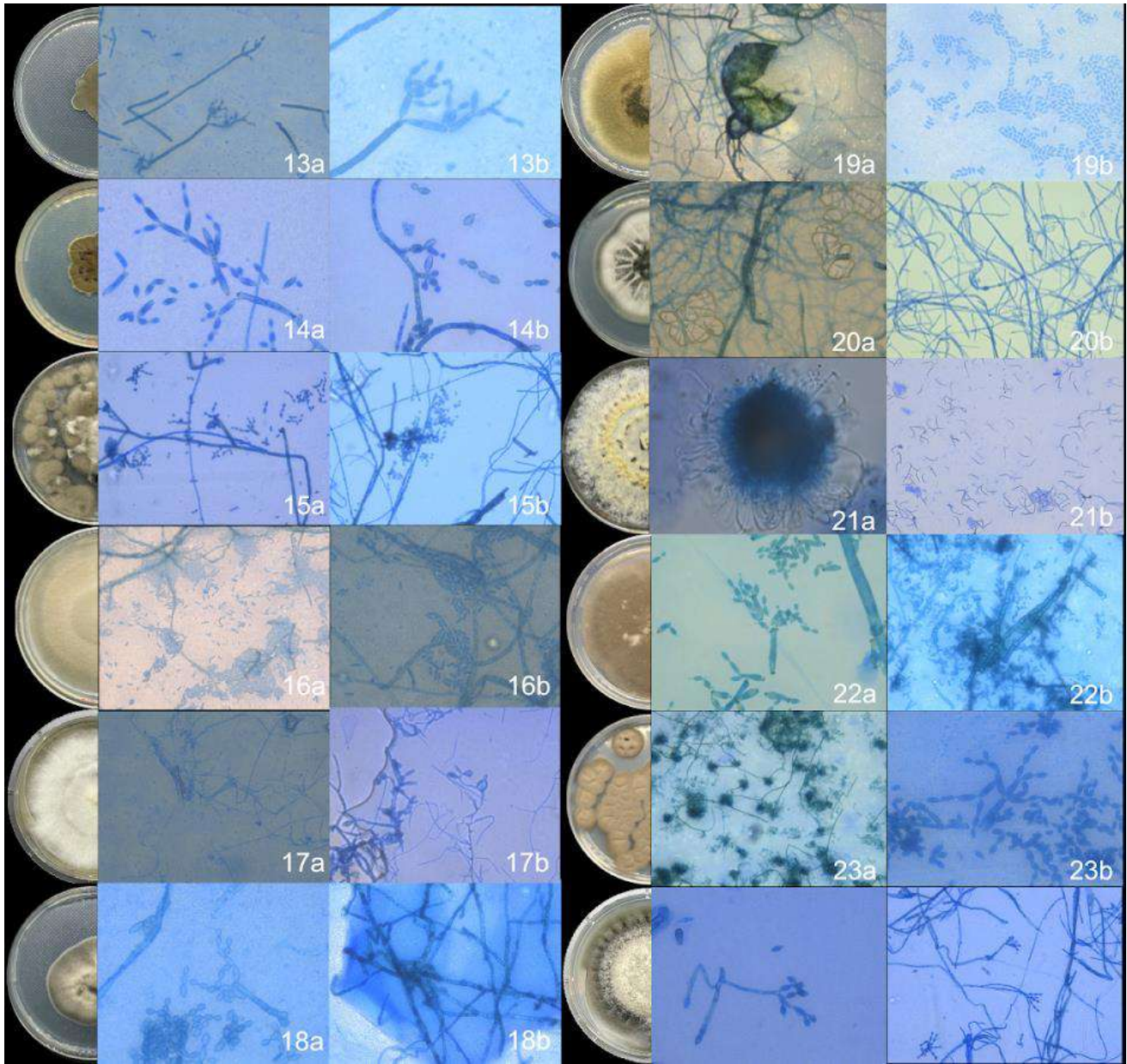


Figura 23. 1. Morfología microscópica de las cepas de hongos estudiados. Continuación.

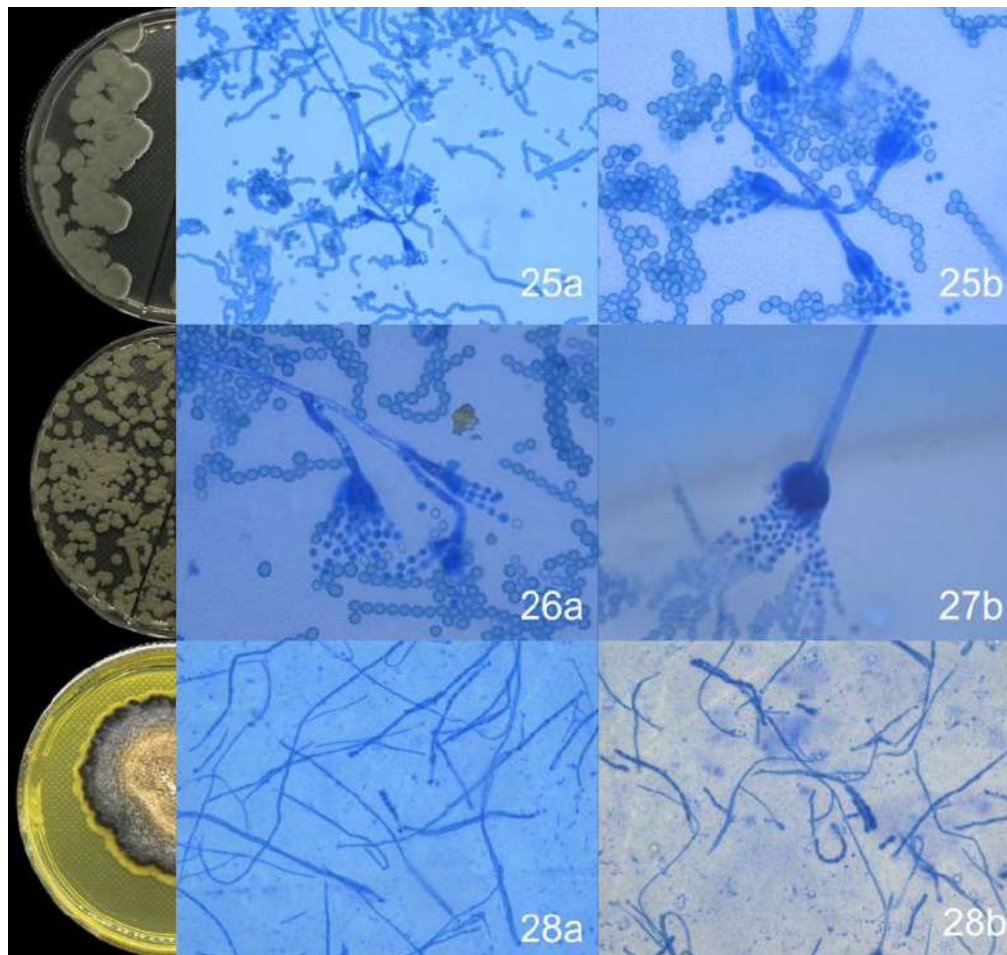


Figura 23. 2. Morfología microscópica de las cepas de hongos estudiados. Continuación.

Tabla 9. Descripción de las características microscópicas de las cepas de hongos estudiados.

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

Cepa		Descripción
1a-1b	164 AiB	Hifas hialinas, delgadas, septadas. Fiálides cortas, delgadas, dispuestas individualmente, no se ven bien diferenciadas de las hifas. Microconidias abundantes de forma elíptica y ovaladas y macroconidias largas en forma de medialuna, con presencia de 3-4 septos. Se observan también clamidosporas terminales e intercalares (100x, 40x).
2a-2b	023 Ai	Hifas hialinas, delgadas, aseptadas. Conidióforos monoverticilados hialinos, erectos. Conidias pequeñas, redondas, de color verde pálido y dispuestas en cadena (40x, 100x).
3a-3b	112 AiA	Hifas hialinas, delgadas, septadas. Conidióforos monoverticilados hialinos, erectos. Conidias pequeñas, redondas, de color verde pálido y dispuestas en cadena (40x, 100x).
4a-4b	309 Ai	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas. Conidióforos largos, ramificados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas, con cicatrices a los extremos, presencia de escudos (40x, 100x).
5a-5b	61 Ai	Hifas hialinas, delgadas, septadas. Conidióforo corto y ramificado en el ápice dando lugar a fiálides cortas en forma de ampolla, a partir de ellos se desarrollan conidias redondas a elípticas de color verde pálido. Presencia de clamidosporas terminales e intercalares, globosas (100x).

6a-6b	64 Ai	Hifas hialinas, delgadas, aseptadas. Conidióforos biverticilados hialinos, erectos. Conidias pequeñas, redondas, de color verde pálido y dispuestas en cadena (40x, 100x) .
7a-7b	47 Ai	Hifas hialinas, delgadas, aseptadas. Conidióforos terverticilados hialinos, erectos. Conidias pequeñas, redondas, de color verde pálido y dispuestas en cadena (40x, 100x) .
8a-8b	171 Ai	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas. Conidióforos largos, ramificados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas, con cicatrices a los extremos, presencia de escudos (100x) .
9a-9b	037 Ai	Hifas hialinas, delgadas, aseptadas. Conidióforo largo terminado en una vesícula circular grande del cual se desarrollan fiálides cortas y abundantes. Conidias pequeñas, redondas que presentan ligeramente una pared rugosa (40x, 100x) .
10a-10b	244 Ai	Hifas hialinas, delgadas, septadas. Conidióforo largo terminado en una vesícula circular pequeña del cual se desarrollan fiálides cortas en forma de ampolla. Conidias pequeñas, redondas que presentan ligeramente una pared rugosa (40x, 100x) .
11a-11b	24 Ai	Hifas hialinas, delgadas, aseptadas. Conidióforos monoverticilados hialinos, erectos. Conidias pequeñas, redondas, de color verde pálido y dispuestas en cadena (100x) .
12a-12b	20 Ai	Hifas hialinas, delgadas, aseptadas. Conidióforos biverticilados hialinos, erectos. Conidias pequeñas, redondas, de color verde pálido y dispuestas en cadena (100x) .
13a-13b	17 Ai	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas. Conidióforos largos, ramificados y septados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas, con cicatrices a los extremos, presencia de escudos.
14a-14b	17 Aia	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas. Conidióforos largos, ramificados y septados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas, con cicatrices a los extremos, presencia de escudos. Conidióforos cortos, septados. Conidiación de tipo <i>Rhinocladiella</i> , conidias redondas a ovaladas ubicadas en el ápice del conidióforo.
15a-15b	17 Aid	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas. Conidióforos largos, ramificados y septados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas, con cicatrices a los extremos, presencia de escudos.
16a-16b	166 Ai	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas. Conidias abundantes agrupadas de forma elipsoidal. Sin conidióforo visible. Presenta clamidosporas.
17a-17b	009 Ai	Hifas hialinas, delgadas, aseptadas. No se observaron estructuras reproductivas.
18a-18b	104 Ai	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas. Conidióforos largos, ramificados y septados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas, con cicatrices a los extremos, presencia de escudos. Desarrollo de clamidosporas intercalares, globosas y de pared gruesa.
19a-19b	66 Ai	Hifas melanizadas, septadas de pared gruesa. Presencia de picnidios globosos a piriformes, con pared gruesa, de color café a verde oliva, se encuentran parcialmente inmersos en el micelio, con apertura presente. Conidias hialinas, elipsoidales, contenidas en una masa mucilaginosa.
20a-20b	15 Ai	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas, se observó un patrón de crecimiento simpodial. Conidióforos largos, ramificados y septados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas, con cicatrices a los extremos, presencia de escudos. Conidióforos cortos, septados. Conidiación de tipo <i>Rhinocladiella</i> , conidias redondas a ovaladas ubicadas en el ápice del conidióforo.
21a-21b	266 Ai	Hifas melanizadas, septadas de pared gruesa. Presencia de picnidios globosos sin apertura visible, de color negro a marrón oscuro, se encuentran por completo inmersos en el agar y sobre el mismo. Presencia de dos tipos de conidias. Conidias alfa; raramente visibles, aseptadas, hialinas y elipsoidales. Conidias beta; aseptadas, lisas, hialinas, fusiformes con el ápice curvado. Presenta clamidosporas.
22a-22b	31 Ai	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas. Conidióforos largos, ramificados y septados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas, ápice del conidióforo termina en una conidia pequeña con forma de ampolla,

		conidias con cicatrices a los extremos, presencia de escudo. Desarrollo de clamidosporas intercalares y terminales, de pared gruesa.
23a-23b	075 Ai	Hifas melanizadas, delgadas, de pared gruesa, septadas. Conidióforos largos, delgados, septados y ramificados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas con cicatrices en sus extremos y presencia de escudos.
24a-24b	28 Ai	Hifas melanizadas de pared gruesa, septadas. Conidióforos largos, ramificados y septados. Conidiación de tipo <i>Cladosporium</i> , conidias de forma redonda a ovaladas, con cicatrices a los extremos, presencia de escudos. Conidióforos cortos, septados.
25a-25b	203 Ai	Hifas hialinas, delgadas, aseptadas. Conidióforos terverticilados hialinos, erectos. Conidias pequeñas, redondas, de color verde pálido y dispuestas en cadena (100x) .
26a-26b	12 Ai	Hifas hialinas, delgadas, aseptadas. Conidióforos monoverticilados hialinos, erectos. Conidias pequeñas, redondas, de color verde pálido y dispuestas en cadena (100x) .
27a-27b	63 Ai	Hifas hialinas, delgadas y septadas. Presencia de artrosporas dispuestas en cadena, se ven ligeramente diferenciadas de la hifa (40x, 100x).

3.2 Identificación molecular

De acuerdo con la caracterización morfológica y molecular se determinaron un total de 11 géneros y 14 especies, agrupados en 6 órdenes, 26 pertenecientes al phylum Ascomycota y 1 al phylum Basidiomycota, que ven detallados en la tabla 10 y 10.1.

Tabla 10. Identificación taxonómica de las cepas estudiadas.

Cepas	Información taxonómica				
	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género/Especie
164 Aib	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i> *cf <i>proliferatum</i>
023 Ai	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Penicillium</i> <i>citreonigrum</i>
112 Aia	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Talaromyces</i> <i>pinophilus</i>
309 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i> *cf <i>tenuissium</i>
61 Ai	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreaceae	<i>Trichoderma</i> <i>longibranchiatum</i>
47 Ai	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Penicillium</i> <i>paxilli</i>
171 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i> *cf <i>tenuissium</i>
037 Ai	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Aspergillus</i> <i>puniceus</i>
24 Ai	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Penicillium</i> sp.
244 Ai	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Aspergillus</i> <i>calidoustus</i>
17 Aia	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i> *cf <i>tenuissium</i>

*cf.: *confer* (comparar con).

**Conidiación tipo *Cladosporium*, son los hongos del grupo dematiáceo no identificables.

Tabla 10.1. Identificación taxonómica de las cepas estudiadas. Continuación

Cepas	Información taxonómica				
	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género/Especie
17 Aid	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i> *cf <i>tenuissium</i>
20 Ai	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Penicillium</i> <i>citrinum</i>
166 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pyrenochaetopsidaceae	<i>Pyrenochaetopsis</i> <i>microspora</i>
266 Ai	Ascomycota	Sordariomycetes	Diaportales	Diaporthaceae	<i>Diaporthe</i> <i>phaseolorum</i>
28 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i> *cf <i>tenuissium</i>
15 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	** <i>Cladosporium</i> sp.
203 Ai	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Penicillium</i> <i>crustosum</i>
12 Ai	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Penicillium</i> sp.
64 Ai	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Penicillium</i> <i>paxilli</i>
009 Ai	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Schizophyllaceae	<i>Schizophyllum</i> <i>commune</i>
17 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	** <i>Cladosporium</i> sp.
104 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i> *cf <i>tenuissium</i>
66 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	<i>Allophoma</i> <i>minor</i>
31 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i> *cf <i>tenuissium</i>
63 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Phaeosphaeria</i> <i>breonadiae</i>
075 Ai	Ascomycota	Dothideomycetes	Cladosporiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i> *cf <i>tenuissium</i>

*cf.: *confer* (comparar con).

**Conidiación tipo *Cladosporium*, son los hongos del grupo dematiáceo no identificables.

3.2.1 Extracción de ADN genómico

Del total de las 27 cepas analizadas morfológicamente, se realizaron 22 extracciones de ADNg que presentaron un alto rendimiento en el aislamiento del material genético (ver Figura 24). Para esto se consideró la concentración de la muestra (>50ng/μl), la pureza, cantidad e integridad por medio de los valores de OD260/280 y OD260/230.

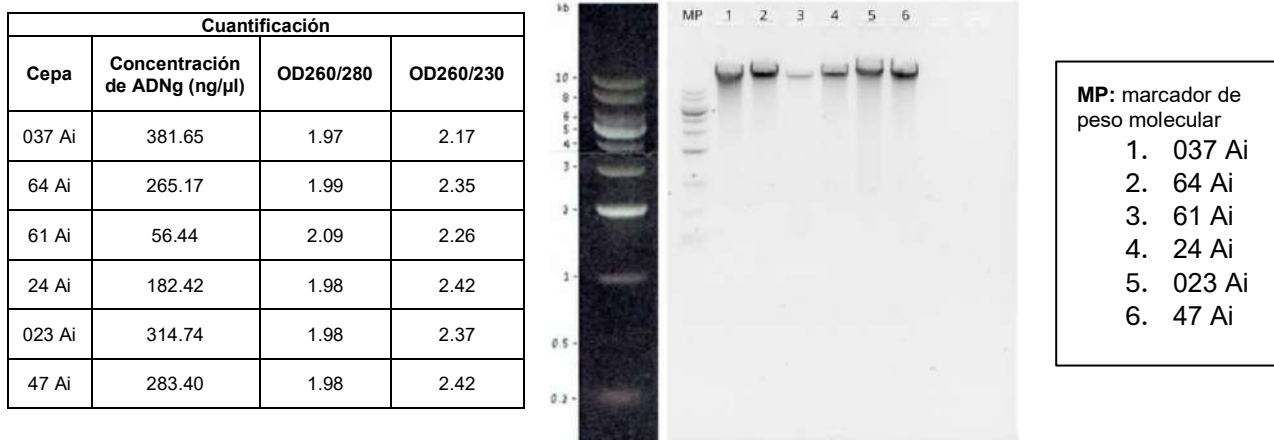


Figura 24. Análisis de electroforesis en gel agarosa al 0.7% de los ADNg extraídos para verificar la cantidad, pureza e integridad. Se muestran ejemplos representativos de las muestras verificadas por electroforesis después de realizar la extracción. (A) Determinación de concentración y pureza del ADN mediante espectrofotometría NanoDrop. (B) Las celdas del 1 al 6 representan los ADNg extraídos a partir del micelio de los hongos estudiados. El MP es el marcador de peso molecular 1 kbp.

3.2.3 Amplificación por PCR punto final

Con el protocolo utilizado en la PCR a punto final y con el uso de los cebadores ITS4 e ITS5 se logró obtener un total de 21 amplicones para las regiones ITS, que posteriormente fueron verificados por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1% (ver Figura 25).

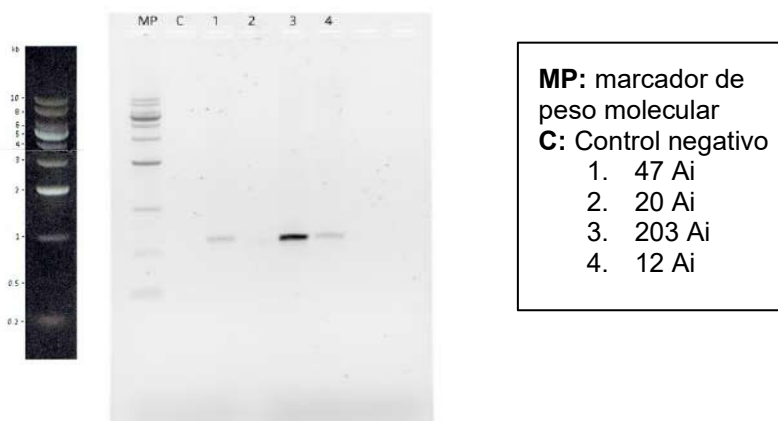


Figura 25. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4μL del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

Por otro lado, se obtuvieron un total de 22 amplicones para la región LSU, con el uso de los cebadores CLA-F y CLA-R, en conjunto con el protocolo para PCR de punto final (ver Figura 26).

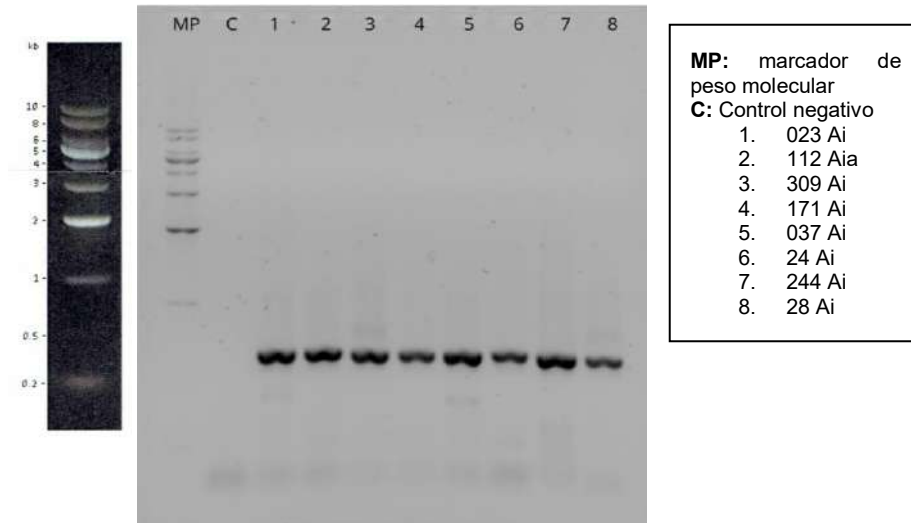


Figura 26. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores CLA-F y CLA-R. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 μ L del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

3.3 Análisis filogenético

Del total de las 27 cepas analizadas, 22 de ellas fueron secuenciadas, tanto para las regiones ITS como las regiones LSU.

De acuerdo con la caracterización morfológica y molecular por medio de las regiones ITS y LSU se determinaron un total de 11 géneros y 14 especies, agrupados en 6 órdenes, 26 pertenecientes al phylum Ascomycota y 1 al phylum Basidiomycota. La construcción de los árboles filogenéticos fue utilizando el programa IQ-TREE, permitiendo analizar diferentes secuencias de ADN mediante la región ITS4-ITS5, y la subunidad grande LSU, por lo tanto, la comparación entre las características morfológicas y el porcentaje de similitud según alineamientos en la base de datos del BLASTn, se lograron identificar los siguientes hongos: *Fusarium* sp., *Penicillium citreonigrum*, *Talaromyces pinophilus*, *Cladosporium tenuissimum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Penicillium paxilli*, *Aspergillus puniceus*, *Aspergillus calidoustus*, *Penicillium citrinum*, *Pyrenochaetopsis microspora*, *Diaporthe phaseolorum*, *Penicillium crustosum*, *Schizophyllum commune*, *Allophoma minor* y *Phaeosphaeria breonadiae*. Asimismo, se registraron múltiples aislamientos adicionales asignados al género *Cladosporium*, principalmente correspondientes a *C. tenuissimum*.

El análisis filogenético con la región ITS agrupó a la cepa **61 Ai** dentro del clado de especie *Trichoderma longibrachiatum*, con un soporte bootstrap de 99. Por su parte, el árbol obtenido a partir de la región LSU mostró la misma agrupación, aunque con valores de soporte intermedios (70–76) (ver Figura 27). En ambos análisis se observan clados bien definidos correspondientes a otras especies de *Trichoderma*, como *T. harzianum* y *T. virens*. La inclusión de *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* como outgroup permitió enraizar correctamente los árboles y corroborar la separación entre clados.

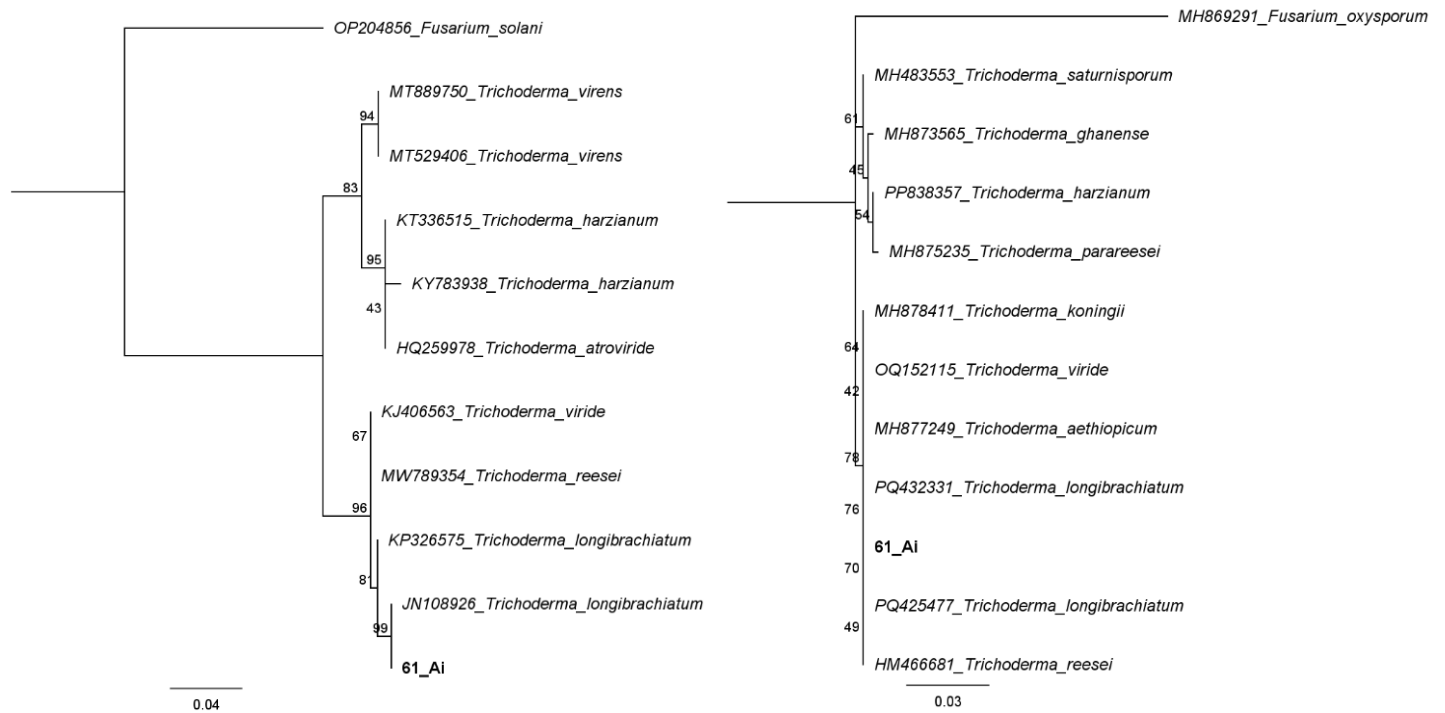


Figura 27. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU. Se muestran las relaciones entre la cepa 61 Ai y especies de referencia del género *Trichoderma*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap. *Fusarium solani* fue utilizado como outgroup para el marcador ITS y *Fusarium oxysporum* para el marcador LSU.

Para la cepa **66 Ai** el análisis filogenético basado en la región ITS agrupó la misma dentro del clado de especie de *Allophoma minor*, con soportes bootstraps de 80-65-76. Por otro lado, el análisis obtenido a partir de la región LSU demostró la misma agrupación dentro del clado de especie con valores bootstrap de 75-68-62. Se utilizaron especies del género *Epicoccum* como outgroup para el enraizamiento del árbol y especies del género *Stagonosporopsis* para observar las relaciones entre clados (ver Figura 28).

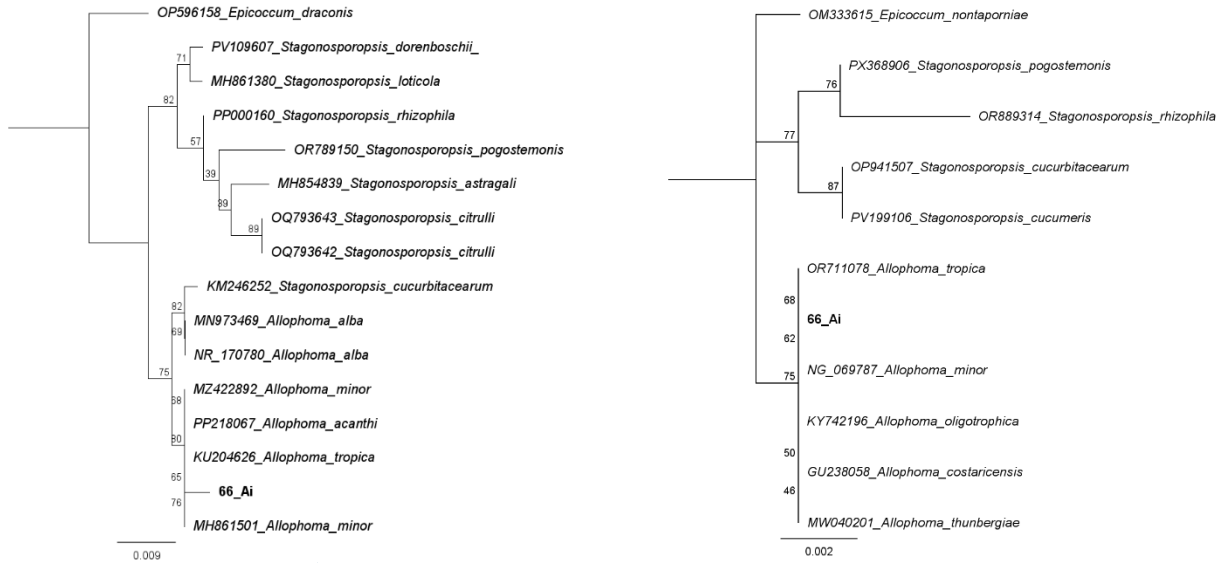


Figura 28. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU. Se muestran las relaciones entre la cepa 66 Ai y especies de referencia del género *Allophoma* y *Stagonosporopsis*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap. *Epicoccum draconis* fue utilizado como outgroup para el marcador ITS y *Epicoccum nontaporniae* para el marcador LSU.

En el caso de la cepa **164 Aib** el análisis basado en la región ITS ubicó a la cepa dentro del clado de especie de *Fusarium proliferatum* con un soporte bootstrap de 73. Sin embargo, para el análisis basado en la región LSU la cepa 164 Aib se encontró dentro del complejo *Fusarium pseudocircinatum*, soportado con un valor de bootstrap de 66. En ambos casos se utilizaron especies del género *Neocosmospora* como outgroups para la organización del árbol (ver Figura 29).

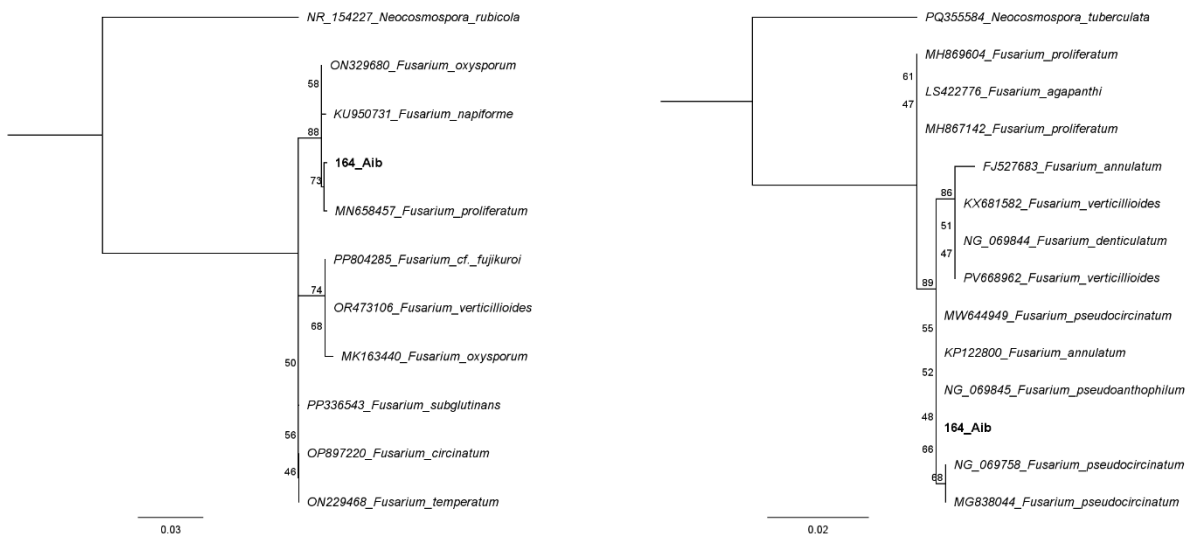


Figura 29. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU. Se muestran las relaciones entre la cepa 164 Aib y especies de referencia del género *Fusarium*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap. *Neocosmospora rubicola* fue utilizado como outgroup para el marcador ITS y *Neocosmospora tuberculata* para el marcador LSU.

El análisis filogenético por medio de la región ITS agrupó a la cepa **63 Ai** dentro del clado de especie de *Phaeosphaeria breonadiae* con un soporte bootstrap de 100, por otro lado, el análisis realizado por medio de la región LSU también agrupó a la cepa dentro del clado de la misma especie, con soportes de 62 y 98 (ver Figura 30).

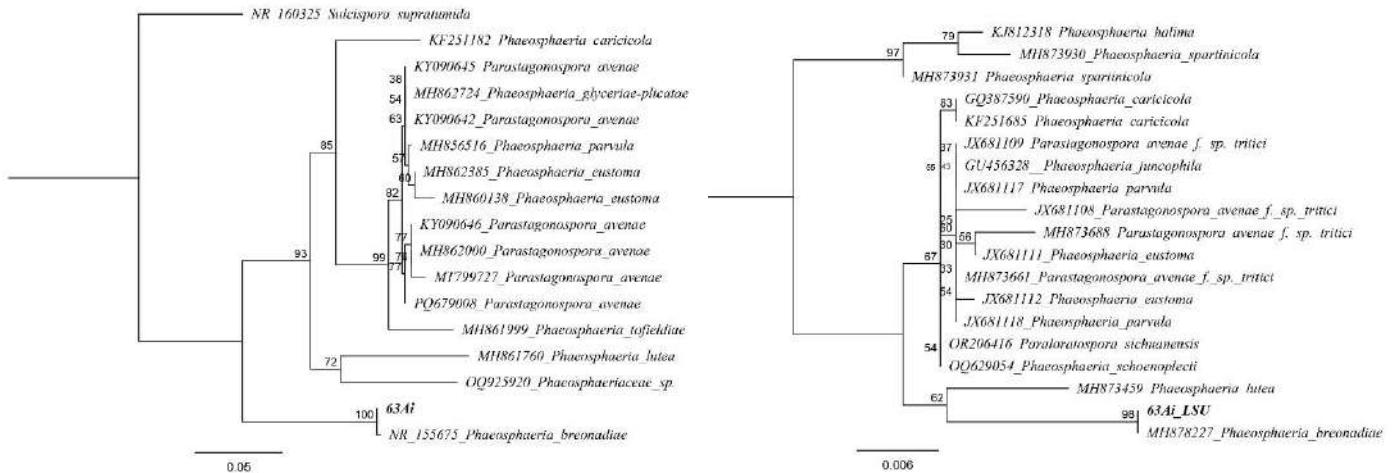


Figura 30. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU. Se muestran las relaciones entre la cepa 63 Ai y especies de referencia del género *Phaeosphaeria*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap. *Sulcispora supratumida* fue utilizado como outgroup para el marcador ITS y el clado *Phaeosphaeria sparticola* para el marcador LSU.

Para la cepa 112 Aia los análisis filogenéticos realizados por las regiones ITS y LSU agruparon a la cepa con el clado de especie *Talaromyces pinophilus*, para le región ITS se observaron valores bootstraps de 77-72-43, por otro lado, para la región LSU se observaron valores de 100-62 (ver Figura 31).

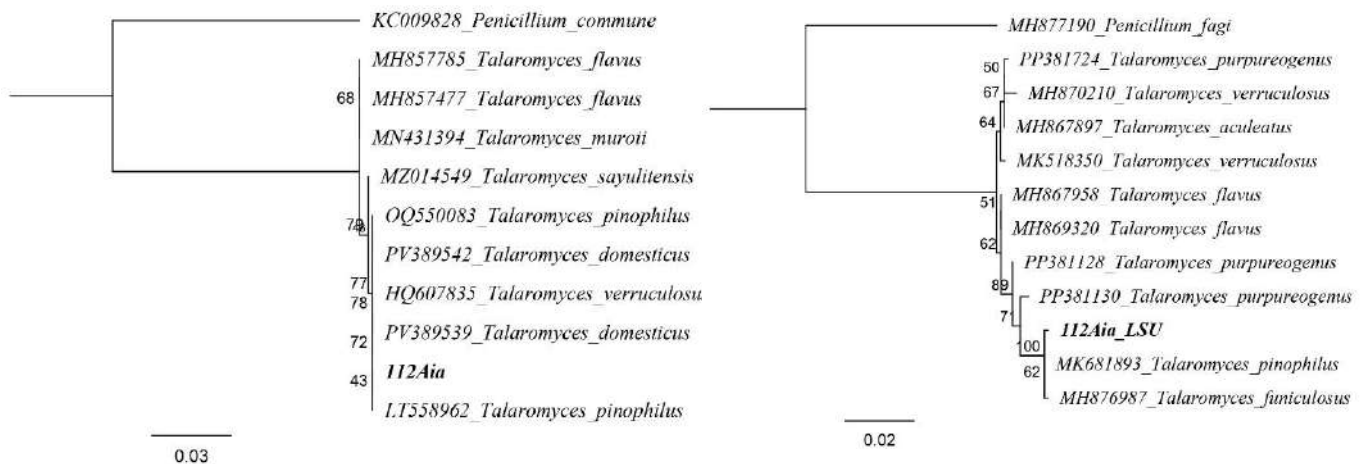


Figura 31. Árboles filogenéticos obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS y LSU. Se muestran las relaciones entre la cepa 121 Aia y especies de referencia del género *Talaromyces*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap. La especie *Penicillium commune* fue utilizada como outgroup para el marcador ITS y *Penicillium fagi* para el marcador LSU.

Para los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* se confeccionó un solo árbol filogenético tomando como referencia estudios similares. Las cepas incluidas para el clado de *Penicillium* corresponden a **203 Ai**, **64 Ai**, **023 Ai**, **47 Ai** y **20 Ai**. Para el clado de *Aspergillus* se incluyeron las cepas **037 Ai** y **244 Ai**.

El análisis filogenético por medio de la región ITS del género *Penicillium* agrupó a la cepa **203 Ai** con el clado de especie de *Penicillium crustosum*, con valores de bootstrap 58-74. Por su parte las cepas **64 Ai** y **47 Ai** se encontraron dentro del clado de *Penicillium paxilli* con un nodo de 91, la cepa **023 Ai** presentó relación con la especie *Penicillium citreonigrum* con un valor de bootstrap de 95, por último, la cepa **20 Ai** se vio estrechamente relacionada con el clado de especie de *Penicillium citrinum* con valores bootstraps de 100-70-63-61. Para el género *Aspergillus*, la cepa **037 Ai** se agrupó con el clado de especie *Aspergillus puniceus* con un valor bootstrap de 79, mientras que la cepa **244 Ai** se encontró dentro del clado de especie de *Aspergillus calidoustus* (ver Figura 32).

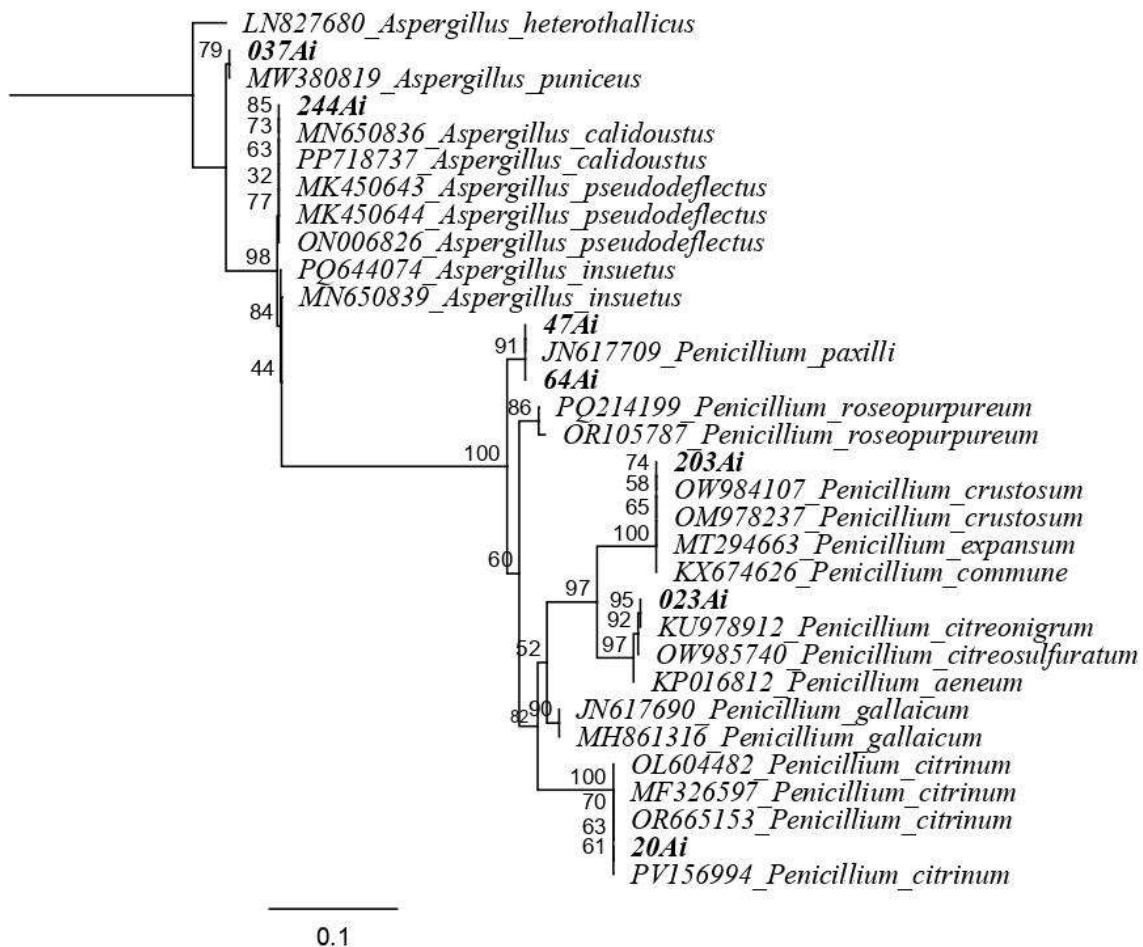


Figura 32. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS. Se muestran las relaciones entre las cepas del género *Penicillium* y *Aspergillus*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap. La especie *Aspergillus heterothallicus* fue utilizada como outgroup.

El análisis filogenético basado en la región LSU confirmó los patrones previamente observados con la región ITS. Las cepas **64 Ai** y **47 Ai** se agruparon consistentemente con *Penicillium paxilli*, con valores de soporte de 65–43. De igual forma, la cepa **203 Ai** volvió a ubicarse dentro del clado de *Penicillium crustosum*, mientras que la cepa **023 Ai** se asoció nuevamente con el clado de *Penicillium citreonigrum*, esta vez con un valor bootstrap de 73. Por su parte, la cepa **20 Ai** mostró una relación estrecha y estable con *Penicillium citrinum*. En el caso del género *Aspergillus*, la cepa **244 Ai** se posicionó dentro del clado correspondiente a *Aspergillus calidoustus* con un valor de bootstrap de 88, lo que refuerza su afinidad con esta especie. En contraste, la cepa **037 Ai** se agrupó con *Aspergillus puniceus*, aunque con valores de soporte menores 41–35, lo cual sugiere una separación filogenética menos robusta (ver Figura 33).

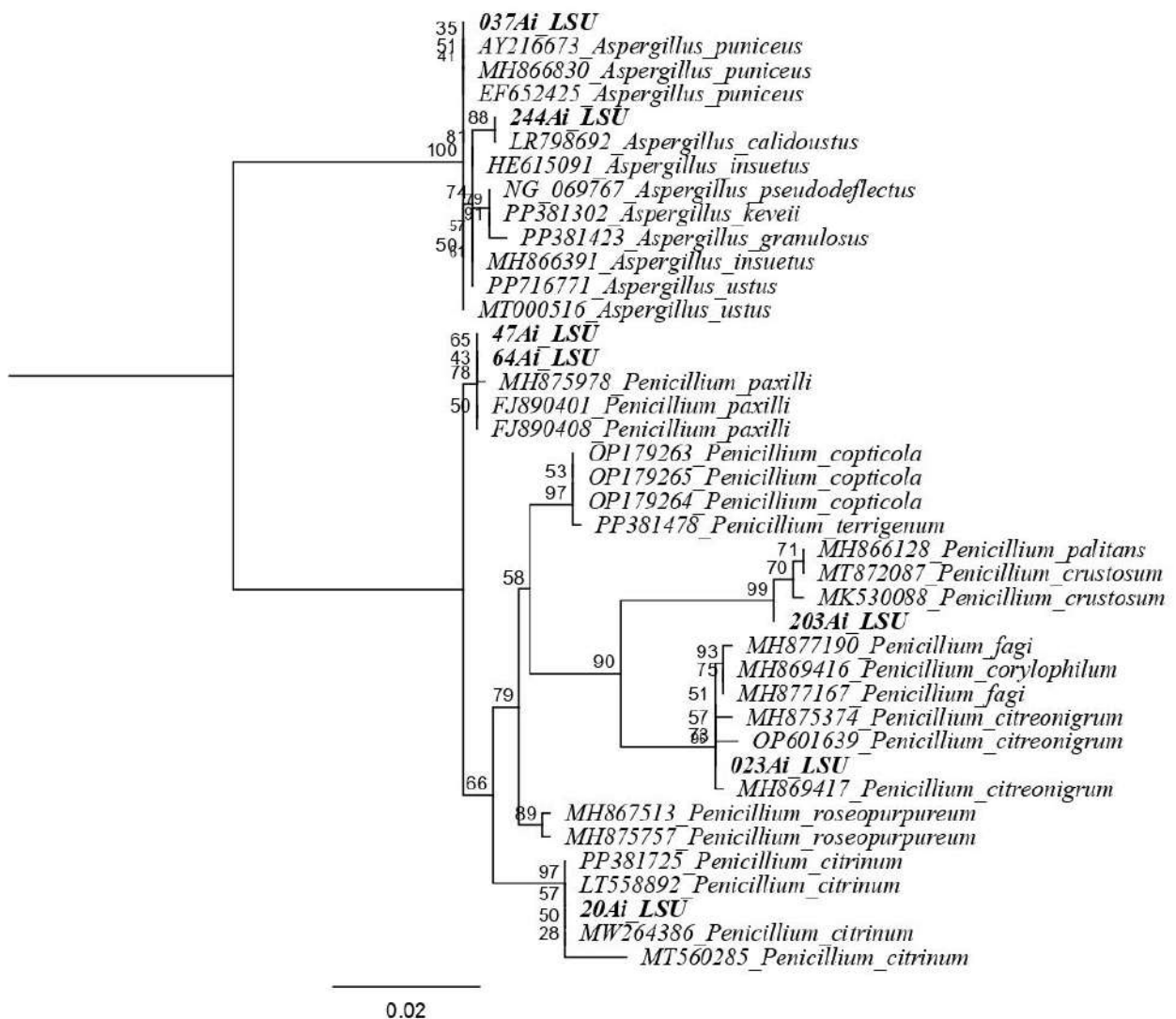


Figura 33. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región LSU. Se muestran las relaciones entre las cepas del género *Penicillium* y *Aspergillus*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap.

Para el género *Cladosporium* se elaboró un único árbol filogenético que incluyó todas las cepas recuperadas pertenecientes a este grupo: **171 Ai**, **17 Aia**, **17 Aid**, **31 Ai**, **309 Ai**, **28 Ai** y **075 Ai**. El análisis basado en la región ITS mostró que todas las cepas se agruparon dentro del clado correspondiente a *Cladosporium tenuissimum*. No obstante, los valores de soporte bootstrap fueron variables y, en general, bajos (57–40–18–79–84), lo que sugiere que, aunque existe una afinidad general con este grupo, la resolución filogenética entre las cepas permanece limitada (ver Figura 34).

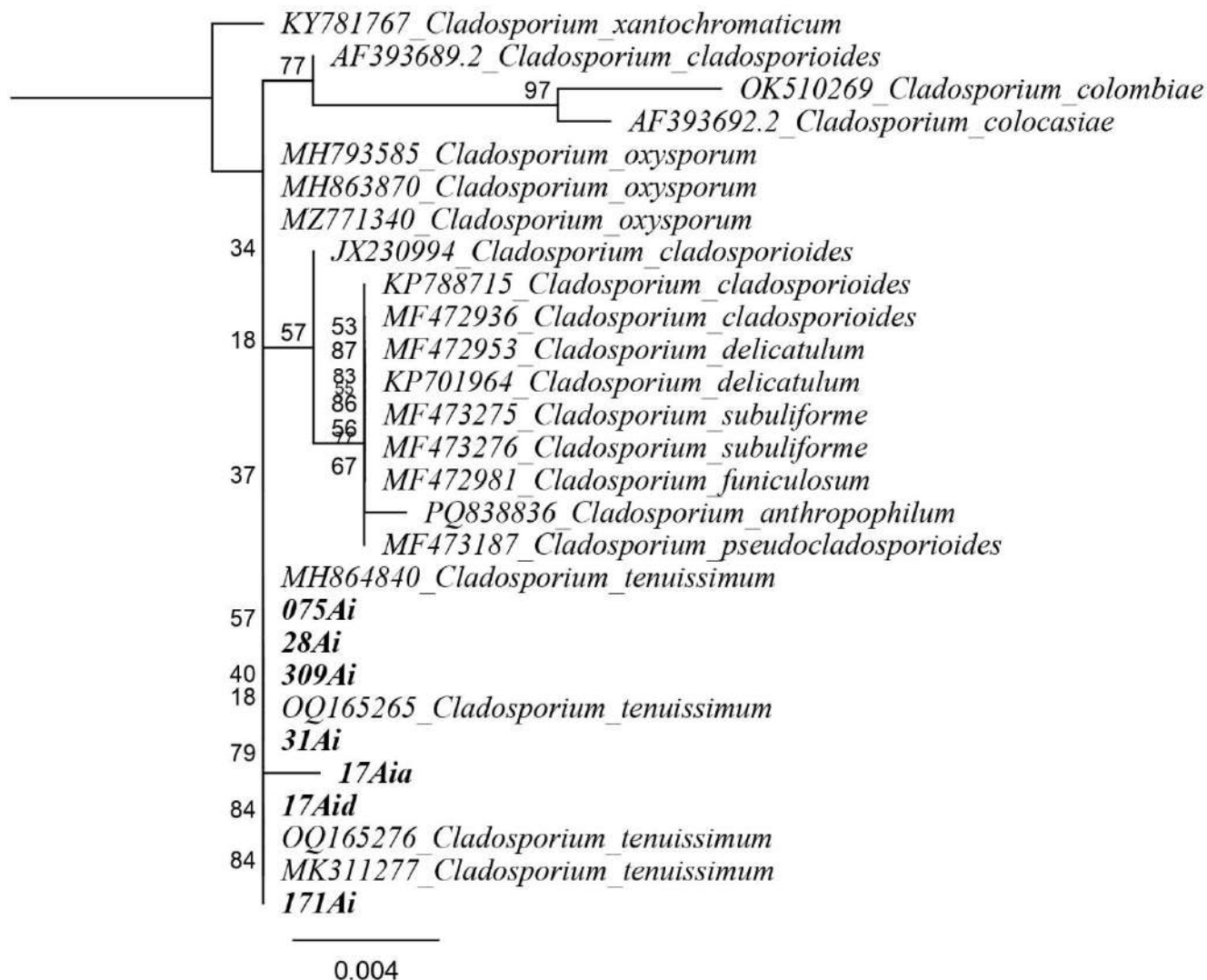


Figura 34. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS. Se muestran las relaciones entre las cepas del género *Cladosporium*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap. La especie *Cladosporium xantochromaticum* fue utilizada como outgroup.

El análisis filogenético basado en la región LSU mostró que las cepas del género *Cladosporium* se distribuyen en varios clados. Las cepas **17 Aia**, **31 Ai** y **075 Ai** se agruparon junto a secuencias de *Cladosporium tenuissimum*, aunque con valores de soporte moderados a bajos. La cepa **17 Aid** también se ubicó cercana a este complejo, pero con soportes aún más reducidos. Por otro lado, las cepas **104 Ai**, **309 Ai** y **28 Ai** formaron un pequeño grupo entre sí, pero sin asociación clara con especies de referencia debido a los bajos valores de bootstrap. Finalmente, la cepa **171 Ai** se posicionó en un clado diferente, mostrando afinidad con especies como *C. angustisporum* y *C. australiense*, con un soporte moderado (ver Figura 35).

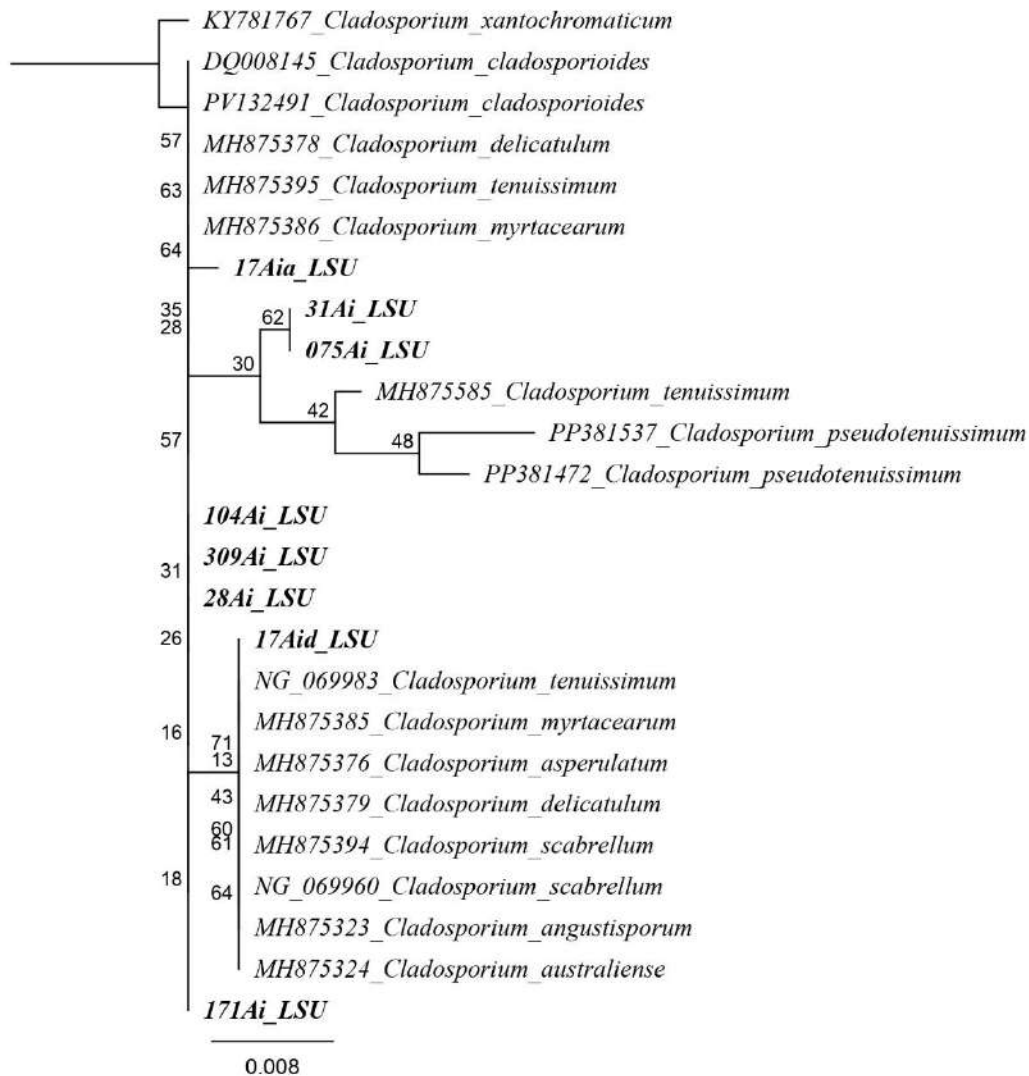


Figura 35. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región LSU. Se muestran las relaciones entre las cepas del género *Cladosporium*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap. La especie *Cladosporium xantochromaticum* fue utilizada como outgroup.

El análisis filogenético por medio de la región ITS agrupó a la cepa **166 Ai** dentro del clado de especie de *Pyrenochaetopsis microspora* con un soporte bootstrap de 92. No se obtuvieron resultados por medio de la región LSU.

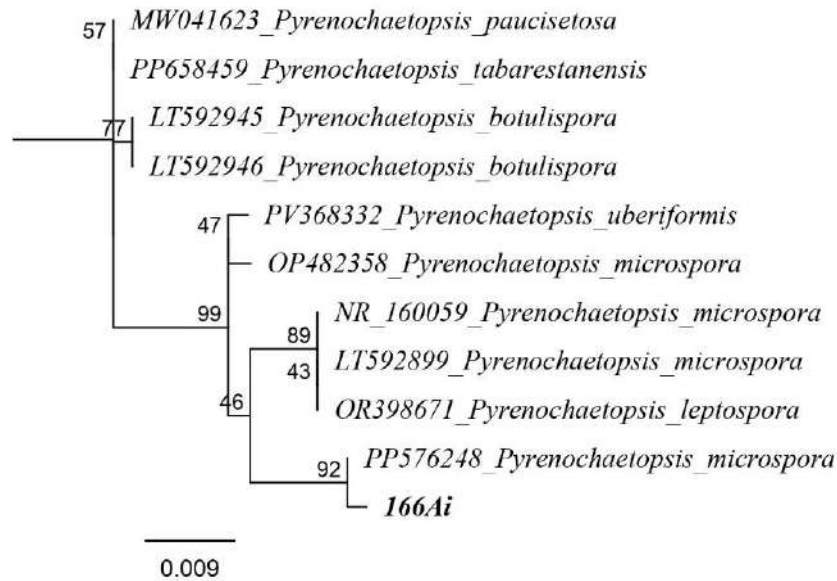


Figura 36. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS. Se muestran las relaciones entre la cepa 166 Ai y especies de referencia del género *Pyrenochaetopsis*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap.

El análisis filogenético por medio de la región ITS agrupó a la cepa **266 Ai** dentro del clado de especie de *Diaporthe phaseolorum* con un soporte bootstrap de 83. No se obtuvieron resultados por medio de la región LSU.

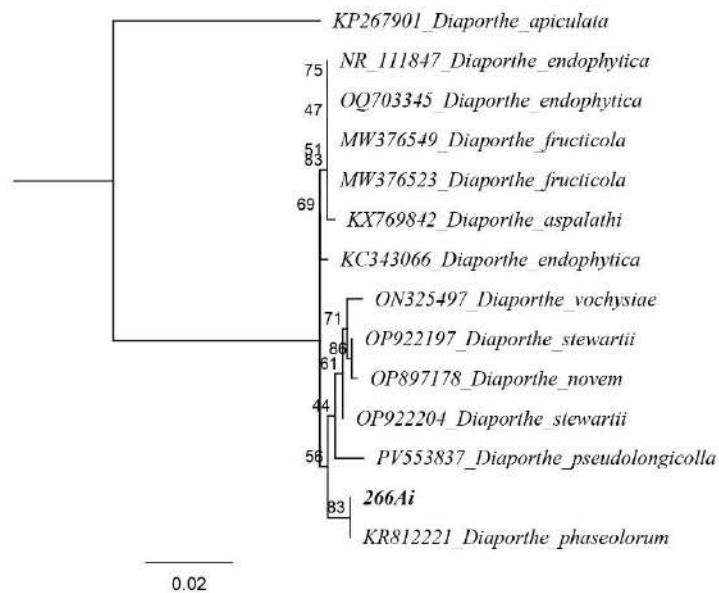


Figura 37. Árbol filogenético obtenido mediante Maximum Likelihood (ML) a partir de secuencias de la región ITS. Se muestran las relaciones entre la cepa 266 Ai y especies de referencia del género *Diaporthe*. Los valores en los nodos corresponden a porcentajes de soporte bootstrap. La especie *Diaporthe apiculata* fue utilizada como outgroup.

3.4 Discusión

La recuperación de 528 cepas de hongos filamentosos evidencia una gran complejidad de la comunidad fúngica presente en el aire de la Bahía de Panamá, la cual es un sitio costero dentro de un ambiente tropical, donde los factores ambientales como la temperatura, la humedad y las dinámicas del viento durante el año favorecen la dispersión continua de las esporas a sitios aledaños (Mot, 2023; Abrego et al., 2024).

Las características macroscópicas evaluadas revelaron diferencias marcadas entre las cepas analizadas. En primer lugar, se identificó una clara predominancia de las cepas de crecimiento rápido (67%), un resultado que coincide con lo esperado para hongos oportunistas presentes en bioaerosoles. Además, la mayoría mostró un desarrollo limitado de micelio aéreo (74%), rasgo habitual en géneros ampliamente distribuidos en ambientes exteriores. En cuanto a la textura, sobresalieron las texturas pulverulentas (33%), afelpadas (30%) y aterciopeladas (22%), las cuales coinciden con las descripciones registradas en estudios previos sobre bioaerosoles. Géneros como *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Trichoderma* suelen mostrar patrones macroscópicos semejantes a los aquí observados (Shelton et al., 2002; Gugnani y Denning, 2023; Al-Shaarani y Pecoraro, 2024).

A nivel microscópico, la diversidad observada se complementa con los resultados obtenidos en los análisis macroscópicos. La presencia de hifas hialinas en el 52% de las cepas y un 42% de hifas melanizadas, sugiere una comunidad balanceada entre los hongos hialinos y el grupo de hongos dematiáceos, ambos grupos suelen coexistir en los bioaerosoles, particularmente en regiones tropicales (Abrego et al., 2024).

La identificación basada en características morfológicas permitió reconocer varios géneros comúnmente reportados en estudios de bioaerosoles. Entre ellos, *Cladosporium* fue el más frecuente (37%), seguido por *Penicillium* (30%). En menor proporción aparecieron otros géneros como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Talaromyces*, *Allophoma* y *Diaporthe*. Aunque estos resultados confirman que la morfología continúa siendo una herramienta valiosa para la clasificación inicial, sus limitaciones se vuelven evidentes al intentar alcanzar una resolución a nivel de especie. Esto es especialmente notable en grupos con alta variabilidad morfológica o con diferencias estructurales mínimas. Tal fue el caso de las cepas 166 Ai, 63 Ai y 009 Ai, cuya identificación no pudo completarse mediante el análisis morfológico, debido a la ausencia de estructuras reproductivas (como conidióforos) o a que las conidias no ofrecían características suficientemente diagnósticas. En consecuencia, su determinación taxonómica requirió el apoyo de análisis moleculares.

Los análisis filogenéticos constituyeron una herramienta fundamental para confirmar y complementar las identificaciones morfológicas obtenidas en este estudio. Debido a que varios aislamientos presentaron rasgos poco diagnósticos o ausencia de estructuras reproductivas, fue necesario apoyarse en la comparación molecular

utilizando las regiones ITS y LSU, marcadores ampliamente utilizados en la delimitación y corroboración taxonómica de hongos filamentosos.

En términos generales, los análisis basados en las regiones ITS y LSU mostraron patrones similares, ya que la mayoría de las cepas se agruparon con las mismas especies de referencia en ambos árboles. Aunque los valores de soporte variaron entre marcadores, las topologías coincidieron ampliamente, lo que ayudó a fortalecer la validez de las identificaciones propuestas.

En el caso del género *Trichoderma*, los análisis filogenéticos mostraron una alta concordancia entre los marcadores ITS y LSU. La cepa **61 Ai** se agrupó dentro del clado de *Trichoderma longibrachiatum*, con valores de soporte superiores en ITS, como es habitual para este género (Meena y Jambhulkar, 2024). Esta coincidencia entre ambas regiones respalda con firmeza la identidad molecular de la cepa.

La identificación de *T. longibrachiatum* es de particular relevancia ya que ha sido reportada como una especie causante de enfermedades. El género *Trichoderma* se encontraba comúnmente como contaminante ambiental, sin embargo, actualmente ha emergido como patógeno en enfermedades invasivas, principalmente en hospederos inmunocomprometido. Como enfermedad invasiva, *T. longibrachiatum* es la especie mayor reportada, seguida por *T. citrinoviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii* y *T. viride* (Vanbiervliet et al., 2025). Esta especie ha sido causante de enfermedades invasivas en los pulmones, piel y tracto digestivo, llegando a afectar hospederos inmunocomprometidos de todo rango de edades y en casos específicos causando la muerte (Teoh et al., 2024).

Para el género *Allophoma*, los análisis filogenéticos fueron consistentes en ambos casos, agrupando a la cepa **66 Ai** con la especie *Allophoma minor*, con valores de soporte 80-65-76 para la región ITS y 75-68-62 para LSU. Sin embargo, aunque ambos análisis tuvieron resultados similares, los valores de soporte no llegan a brindar una resolución eficaz para una identificación a nivel de especie, esto se debe a que este género requiere de marcadores más específicos que brinden mayor información como lo son β -tubulina (*tub2*) y la Subunidad más grande de la ARN polimerasa II (*rpb2*) (Chen et al., 2015).

Por otra parte, *Allophoma* ha sido ampliamente reportado como un género que incluye fitopatógenos y saprótrofos, se encuentran principalmente en el suelo y aire, habitualmente sus hospederos son plantas de las familias *Fabaceae*, *Myrtaceae*, *Piperaceae*, *Primulaceae*, *Rosaceae*, *Rubiaceae*, *Solanaceae*, *Sterculiaceae*, *Verbenaceae*, entre otras. Sin embargo, también se ha llegado a observar como hospedero a los seres humanos, causando lesiones en los ojos en casos muy aislados (Marin-Felix et al., 2019).

A diferencia de las cepas anteriores, **164 Aib** no presentó resultados consistentes en los análisis filogenéticos, donde se pudo observar un contraste en los agrupamientos de ambos árboles. El análisis basado en ITS la ubicó dentro del clado

de *Fusarium proliferatum* (bootstrap 73), una especie ampliamente reportada en ambientes tropicales y reconocida por su estrecha relación con otros miembros del complejo *F. fujikuroi*. Sin embargo, en la región LSU se observó una agrupación distinta, posicionando a la cepa dentro del complejo *Fusarium pseudocircinatum*, con un soporte de 66. Esta discrepancia entre marcadores es esperable, ya que ITS suele presentar limitaciones para discriminar especies estrechamente relacionadas, mientras que LSU, aunque útil para niveles superiores, tampoco brinda suficiente resolución en grupos altamente diversificados como este complejo.

En este contexto, ambos análisis indican que la cepa 164 Aib pertenece claramente al complejo *F. fujikuroi*, pero no permiten definir con precisión su identidad específica. Por esta razón, la confirmación taxonómica requiere el empleo de marcadores más específicos, como TEF1- α , RPB2 o β -tubulina, los cuales han demostrado un mayor poder discriminatorio en estudios previos del género (Al-Hatmi et al., 2016; Yilmaz et al., 2021).

El género *Fusarium* ha sido tradicionalmente considerado un grupo de hongos saprófitos poco atendido en estudios clínicos, a pesar de su amplia distribución en diversos ambientes, incluyendo agua, suelo y aire. No obstante, en los últimos años se ha reconocido su relevancia médica, ya que varias especies son capaces de provocar infecciones oportunistas, tales como onicomycosis, queratitis, osteomielitis y sinusitis, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. En particular, *Fusarium proliferatum* ha sido asociado en diversos estudios con infecciones cutáneas, afecciones del tracto urinario e incluso casos invasivos más severos, entre ellos meningoencefalitis, lo que evidencia su potencial patógeno y la importancia de su identificación precisa (Al-Hatmi et al., 2016; Mohaghegh et al., 2022).

Por otra parte, los resultados filogenéticos tanto para ITS como para LSU coinciden en ubicar la cepa **63 Ai** dentro del clado de *Phaeosphaeria breonadiae*, con valores de soporte altos (ITS: bootstrap 100 y LSU: bootstrap 62 y 98). Esta consistencia entre marcadores respalda con alta confianza la asignación taxonómica de la cepa.

La confirmación molecular adquiere un papel fundamental en este grupo, dado que los miembros de la familia *Phaeosphaeriaceae* presentan una notable variabilidad morfológica, lo que a menudo dificulta su identificación precisa cuando se basa únicamente en rasgos fenotípicos. Debido a estas limitaciones, numerosos estudios han destacado la utilidad combinada de las regiones ITS y LSU como estrategia confiable para la delimitación de géneros y especies dentro del orden Pleosporales, permitiendo resolver discrepancias morfológicas y mejorar la resolución taxonómica (Wanasinghe y Maharachchikumbura, 2023). Actualmente esta especie solo se ha reportado como fitopatógena e información acerca de sus hospederos es limitada.

La identificación molecular de la cepa **112 Aia** mostró una clara consistencia entre los análisis basados en las regiones ITS y LSU, ya que ambos la ubicaron dentro del clado correspondiente a *Talaromyces pinophilus*. En el caso de la región ITS, los valores de soporte fueron 77, 72 y 43, lo que sugiere una resolución moderada pero

suficiente para ubicar el aislamiento dentro de la especie. Por su parte, los análisis LSU proporcionaron soportes de 100 y 62, reforzando la identificación taxonómica y confirmando la estabilidad de este clado.

Aunque *T. pinophilus* no es reconocido como un patógeno humano, diversos estudios han mostrado que posee una alta capacidad de producción de metabolitos secundarios. Esta versatilidad metabólica sugiere que, aunque no existan reportes de patogenicidad humana, su presencia en bioaerosoles podría implicar un potencial riesgo indirecto relacionado con la exposición a metabolitos desconocidos o poco estudiados. Por lo tanto, la detección de *T. pinophilus* en muestras ambientales, como ocurre en este caso, pone de manifiesto la relevancia de continuar explorando el perfil toxicológico y alergénico de los metabolitos producidos por esta especie (Vinale et al., 2017; Adelusi et al., 2022).

Los análisis filogenéticos permitieron confirmar la identidad de varias cepas pertenecientes a la familia Aspergillaceae, de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*, ambos comúnmente reportados en estudios de bioaerosoles debido a su abundancia, facilidad de dispersión y amplia diversidad ambiental (Ballesteros y Espino, 2004; Gallardo y Griffith, 2017; Al-Shaarani, y Pecoraro, 2024).

En el caso de *Penicillium*, las regiones ITS y LSU lograron ubicar a las cepas estudiadas dentro de clados específicos, incluyendo *P. paxilli*, *P. citrinum*, *P. citreonigrum* y *P. crustosum*, con valores bootstrap que oscilaron entre moderados y elevados. Esta concordancia entre ambos marcadores fortalece la identificación, especialmente considerando que el género presenta numerosos complejos de especies morfológicamente similares y, por lo tanto, difíciles de diferenciar únicamente por estas características.

Las cepas **64 Ai** y **47 Ai** se agruparon dentro del clado de *Penicillium paxilli*, con un soporte bootstrap de 91 para el análisis basado en ITS y valores de 65-43 para la región LSU, lo que respalda una relación filogenética estable entre ambos marcadores. Aunque *P. paxilli* no ha sido documentado como patógeno humano, destaca por su capacidad ampliamente reportada de producir metabolitos secundarios, entre ellos la micotoxina paxillina, un compuesto de reconocida actividad neurotóxica. Esta toxina actúa inhibiendo los canales BK, esenciales para la modulación de la excitabilidad neuronal, mecanismo que puede generar efectos tremorgénicos, convulsiones o episodios de hiperexcitabilidad en modelos animales. Si bien no existen reportes clínicos confirmados de intoxicación por paxillina en humanos, su similitud estructural y funcional con otras micotoxinas tremorgénicas sugiere un riesgo potencial en escenarios de exposición ambiental elevada (Zhou y Lingle, 2014).

En el caso de la cepa **203 Ai**, los análisis realizados con las regiones ITS y LSU la ubicaron dentro del clado de *Penicillium crustosum*, con valores bootstrap de 58-74 para ITS y de 99-71 para LSU, lo que respalda una identificación sólida de la especie. *P. crustosum* es un hongo ampliamente distribuido en ambientes interiores,

bioaerosoles y sedimentos, y también ha sido reportado como especie endófito en diversos hospederos. Su relevancia radica en la producción de penitrem A, una micotoxina neurotóxica, ha sido documentada principalmente en animales, generando cuadros de temblores, convulsiones y ataxia. En 2005 se reportó que la ingestión de alimentos contaminados con penitrem A puede inducir síntomas similares en humanos. Además de la vía alimentaria, se ha sugerido que estas toxinas podrían ingresar al organismo mediante la inhalación de esporas y fragmentos de hifas presentes en el aire, permitiendo su distribución sistémica a través del torrente sanguíneo (Stranska et al., 2022).

Para la cepa **20 Ai**, los análisis filogenéticos mostraron una clara afinidad con *Penicillium citrinum*, lo cual se ve respaldado por los valores de soporte obtenidos tanto para ITS (70–63–61) como para LSU (97–57–50). Al igual que otras especies del género, *P. citrinum* es un hongo saprófito comúnmente encontrado en suelos, aire y alimentos almacenados. Presenta una distribución predominante en regiones tropicales y se caracteriza por una tasa de crecimiento rápida, rasgo ampliamente compartido dentro de la familia.

Aunque no se considera un patógeno primario, *P. citrinum* es reconocido como un patógeno oportunista, capaz de causar infecciones en individuos inmunocomprometidos y de asociarse a reacciones alérgicas en ambientes interiores. De hecho, se ha reportado un caso fatal de neumonía en un paciente con leucemia asociado a esta especie, lo que evidencia su potencial oportunista (Mok et al., 1997; Hesse et al., 2017).

Además, *P. citrinum* posee la capacidad de sintetizar diversas micotoxinas, siendo la citrinina la más estudiada. Esta toxina es reconocida por su hepatotoxicidad y nefrotoxicidad en múltiples especies animales, y ha sido vinculada con cuadros de nefropatía endémica tanto en humanos como en animales. La citrinina se ha detectado principalmente en productos agrícolas, alimentos almacenados, piensos y diversas frutas (Li et al., 2017). Desde la década de 1970, estudios experimentales han demostrado los efectos adversos de su consumo, incluyendo aumento del tamaño renal en ratas, alteraciones metabólicas y hepáticas en conejos, y diarrea aguda en pollos, evidenciando que la exposición continua a esta toxina representa un riesgo significativo para la salud animal y humana (Wyatt, 1977).

Por último, dentro del género *Penicillium* se encuentra la cepa **023 Ai**, cuya identificación filogenética mostró una afinidad clara con el clado correspondiente a *Penicillium citreonigrum*, respaldada por valores bootstrap de 95 para ITS y 73 para LSU. Aunque no se clasifica como un patógeno humano primario, *P. citreonigrum* es considerado un organismo oportunista, con capacidad para causar infecciones en individuos inmunocomprometidos y para desencadenar reacciones alérgicas o síntomas respiratorios en ambientes interiores con elevada concentración de esporas.

Su relevancia sanitaria radica principalmente en su capacidad para producir micotoxinas, entre las cuales destaca la citreoviridina, una toxina neurotóxica e inhibidora de ATPasa históricamente asociada a brotes de beriberi toxicoalimentario vinculados al consumo de arroz contaminado (Li et al., 2017). Además de citreoviridina, esta especie también puede sintetizar otros metabolitos secundarios de importancia toxicológica, como citreoylina y compuestos relacionados, frecuentemente detectados en productos agrícolas almacenados.

Los primeros registros documentados de beriberi asociados a citreoviridina surgieron en Japón, donde se reportaron casos fatales por afectaciones severas al sistema cardíaco. Posteriormente, se registraron incidentes en otros países asiáticos y, más tarde, fuera del continente. Un caso particularmente relevante ocurrió en Brasil, donde 32 personas fallecieron tras consumir arroz contaminado con *P. citreonigrum* y sus toxinas (Rosa et al., 2010). Estudios experimentales han demostrado que la exposición a citreoviridina puede inducir efectos severos, incluyendo disfunción neurológica, pérdida de peso, degeneración de fibras musculares y alteraciones cardíacas en modelos animales, lo que subraya el riesgo asociado a su ingestión o exposición prolongada (Okano et al., 2020).

Para el género *Aspergillus* los análisis filogenéticos por medio de la región ITS y LSU lograron agrupar las cepas estudiadas con los clados de *Aspergillus puniceus* y *Aspergillus calidoustus*. Los hongos del género *Aspergillus* representan los hongos filamentosos patógenos más importantes para los humanos, causando aspergilosis invasiva (AI) en pacientes con defensas inmunitarias debilitadas. Particularmente estas dos especies se encuentran dentro del clado *Usti*, la mayoría de las especies de la sección *Usti* crecen a 25-30 °C. Una temperatura más alta (37 °C) permite distinguir *A. calidoustus* u otras especies termotolerantes de las especies no patógenas (Glampedakis et al., 2021).

En el caso de la cepa **244 Ai** los análisis filogenéticos revelaron un agrupamiento con la especie *Aspergillus calidoustus*, con soportes bootstraps similares para las regiones ITS y LSU lo que nos permite una identificación taxonómica adecuada.

Aspergillus calidoustus, un miembro del clado *Ustus*, se caracteriza por su capacidad para desarrollarse en ambientes cálidos y su notable resistencia a condiciones ambientales estresantes. La detección de esta especie en los bioaerosoles de la Bahía de Panamá es particularmente relevante, dado que *A. calidoustus* ha sido reportado como un hongo oportunista emergente, asociado principalmente con infecciones en pacientes inmunocomprometidos y reconocido por su tolerancia a temperaturas elevadas. Estas características sugieren que su presencia en el ambiente podría verse favorecida por climas tropicales o condiciones de alta humedad, como las que predominan en la zona de estudio.

A diferencia de especies como *A. fumigatus*, ampliamente reconocidas como patógenos respiratorios frecuentes, *A. calidoustus* causa infecciones menos comunes, pero clínicamente significativas, especialmente en contextos de

inmunosupresión severa, como en pacientes trasplantados o con enfermedades hematológicas. Cuando se presentan, estas infecciones suelen manifestarse como aspergilosis invasiva, una forma grave de infección que puede comprometer no solo el tejido pulmonar, sino también otros órganos y tejidos blandos (Glampedakis et al., 2020; Okoroafor et al., 2024).

La literatura médica indica que las infecciones por *A. calidoustus* en humanos, aunque infrecuentes, se asocian con una elevada mortalidad. Series de casos reportan tasas de mortalidad global superiores al 60 %, con mortalidad atribuible a la infección cercana al 30 %, lo que refleja el comportamiento altamente oportunista y la gravedad clínica que puede alcanzar esta especie en pacientes vulnerables (Seroy et al., 2017).

La cepa **037 Ai** fue agrupada con la especie *Aspergillus puniceus* en los estudios filogenéticos de ambas regiones. La identificación de *A. puniceus* en bioaerosoles de la Bahía de Panamá refleja la diversidad micológica del aire en ambientes tropicales y su capacidad de dispersión mediante esporas. En general, las especies de *Aspergillus* se encuentran entre los hongos más comunes en el aire y pueden ser inhaladas fácilmente, lo que está implicado en una variedad de enfermedades respiratorias y alérgicas cuando las concentraciones son elevadas.

Aunque el género *Aspergillus* incluye especies con alto impacto clínico como *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*, reconocidos agentes de aspergilosis invasiva y otras micosis, *A. puniceus* no se considera un patógeno humano común ni una de las especies típicamente implicadas en infecciones oportunistas. De hecho, la evidencia clínica que lo vincule directamente con aspergilosis invasiva en individuos inmunocomprometidos es escasa o inexistente, lo que sugiere que su papel como agente patógeno humano es limitado frente a las especies de mayor importancia clínica dentro del género (Arastehfar et al., 2021).

En términos de producción de metabolitos secundarios, muchas especies de *Aspergillus* son conocidas por sintetizar micotoxinas de relevancia toxicológica como aflatoxinas y ocratoxinas, que representan riesgos para la salud humana y animal cuando contaminan alimentos. Sin embargo, no existen datos sólidos que indiquen que *A. puniceus* produzca micotoxinas de importancia como *A. flavus* o *A. ochraceus*. Algunos estudios han descrito compuestos bioactivos producidos por *A. puniceus*, como alcaloides isoquinolínicos con actividad antifúngica, lo que evidencia un perfil metabólico secundario complejo, pero sin asociación clara con toxinas peligrosas para la salud pública (Li et al., 2025).

A diferencia de los análisis filogenéticos realizados para otros géneros, los resultados obtenidos para *Cladosporium* mostraron un patrón particular, caracterizado por valores de soporte bajos en ambas regiones analizadas (ITS y LSU) y por la ausencia de un agrupamiento consistente entre las cepas. Aunque en términos generales se observó una afinidad con el clado *Cladosporium tenuissimum*,

los valores de soporte reducidos reflejan una relación filogenética limitada, consistente con la compleja diversidad taxonómica descrita para este género.

El análisis basado en ITS mostró que todas las cepas recuperadas (**171 Ai, 17 Aia, 17 Aid, 31 Ai, 309 Ai, 28 Ai y 075 Ai**) se agruparon dentro del clado de *C. tenuissimum*. Este patrón sugiere que, de manera preliminar, las secuencias presentan afinidad con este clado. Sin embargo, los valores de soporte bootstrap obtenidos fueron variables y, en general, bajos (57-40-18-79-84), lo que confirma la limitada capacidad de ITS para diferenciar especies estrechamente relacionadas dentro de *Cladosporium*, una limitación que ha sido ampliamente documentada (Bensch et al., 2016; Sandoval-Denis et al., 2016).

La reconstrucción filogenética basada en LSU reforzó esta tendencia, ya que las cepas se distribuyeron en distintos clados con valores de soporte igualmente bajos. Aunque *C. tenuissimum* aparece como la especie de referencia más cercana para varias de ellas, la dispersión de las cepas en diferentes agrupamientos y la falta de soportes impiden una identificación concluyente. Este comportamiento coincide con estudios que destacan la naturaleza críptica y altamente diversa del género, donde la delimitación de especies requiere de evidencia multigénica (Bensch et al., 2016).

La presencia de *Cladosporium* en los bioaerosoles de la Bahía de Panamá es consistente con su ecología, ya que se trata de uno de los géneros más abundantes en ambientes exteriores a nivel mundial, especialmente en regiones tropicales y húmedas (Ballesteros y Espino, 2004; Gallardo y Griffith, 2017; Al-Shaarani y Pecoraro, 2024; Moreno-Jiménez, 2025). Su alta producción de conidias fáciles de dispersar favorece su persistencia en el aire y explica su alta frecuencia en estudios aeromicológicos.

Aunque *Cladosporium* se considera predominantemente un género ambiental, algunas especies pueden ocasionar infecciones oportunistas, principalmente cutáneas y subcutáneas, así como sinusitis o queratitis en individuos inmunocomprometidos (Sandoval-Denis et al., 2016). No obstante, *C. tenuissimum* rara vez se asocia a enfermedad humana significativa y es más relevante como alérgeno. De hecho, se tiene registro de su capacidad de desencadenar alergias respiratorias, incluyendo rinitis y asma, debido a su abundante liberación de esporas (Nasiri-Jahrodi, 2023). Ensayos experimentales también han demostrado que algunas cepas pueden inducir síntomas cutáneos asociados a micosis, aun sin ser dermatofitos (Nwofor et al., 2024).

A su vez, diversos estudios coinciden en que los marcadores ITS y LSU, aunque útiles para asignaciones generales, resultan insuficientes para la resolución a nivel de especie dentro del complejo *C. tenuissimum*. Por ello, se recomienda incorporar marcadores como TEF1- α , ACT, CAL y HIS3, los cuales han demostrado ofrecer mayor especificidad y permitir una delimitación más precisa entre especies estrechamente relacionadas (Bensch et al., 2016).

La cepa **166 Ai** por otro lado, mostró afinidad con *Pyrenochaetopsis microspora* en el análisis filogenético basado en la región ITS, lo que respalda su identificación dentro de este género. No obstante, los análisis de la región LSU no generaron resultados concluyentes, lo cual es común en taxones poco muestreados y puede deberse a fallas de amplificación, baja variabilidad del marcador o a la limitada disponibilidad de secuencias de referencia para LSU en *Pyrenochaetopsis*. Este comportamiento ha sido documentado previamente en Pleosporales, donde la resolución molecular suele requerir la incorporación de marcadores adicionales como *rpb2* y *tub2* (de Gruyter et al., 2013).

Desde el punto de vista ecológico, *Pyrenochaetopsis* incluye hongos saprótrofos y endófitos asociados a suelos, restos vegetales y ambientes acuáticos, lo que refleja un comportamiento flexible y explica su recuperación a partir de bioaerosoles (Marin-Felix et al., 2019).

P. microspora no se encuentra comúnmente entre los agentes de micosis humanas, y la información disponible es limitada. Algunas especies dentro de *Pyrenochaetopsis* han sido aisladas de muestras clínicas, como en un caso reportado de sinusitis humana que agrupó con *P. microspora* en análisis filogenéticos más amplios, lo que sugiere que, aunque poco frecuente, puede existir potencial para infecciones oportunistas en hospederos vulnerables (Valenzuela-Lopez, 2018).

Por último, tenemos al género *Diaporthe*, el análisis filogenético de la región ITS agrupó a la cepa **266 Ai** con la especie *Diaporthe phaseolorum* con un valor de soporte bootstrap de 83 demostrando una alta afinidad con esta especie, sin embargo, al igual que lo ocurrido con *Pyrenochaetopsis* los resultados de la región LSU fueron inconclusos, lo cual puede atribuirse a fallas en la amplificación, presencia de secuencias ambiguas o a la falta de secuencias representativas del género en las bases de datos para este marcador. Esta limitación es común en grupos de alta diversidad como *Diaporthe*, donde la variación en LSU resulta insuficiente para discriminar entre especies cercanas. Estudios recientes recomiendan enfoques multilocus que incluyan genes como EF1- α , TUB2 y CAL (Dos Santos et al., 2016).

Aunque *D. phaseolorum* es ampliamente reconocida como un fitopatógeno importante, responsable de causar lesiones necróticas, marchitez y senescencia prematura en múltiples especies vegetales de relevancia agrícola, en años recientes también se ha reportado como agente causal de feohifomicosis en humanos. Los casos documentados incluyen nódulos subcutáneos, eumicetomas y lesiones eritematosas, principalmente en pacientes inmunocomprometidos (Iriart et al., 2011; Mattei et al., 2013; Laosakul et al., 2020). Esta dualidad ecológica como patógeno vegetal y oportunista humano, indica la versatilidad adaptativa del género.

La detección de *D. phaseolorum* en los bioaerosoles de la Bahía de Panamá es de particular importancia, ya que su presencia en el aire sugiere la dispersión activa de

un hongo que, además de afectar cultivos, puede actuar como oportunista en humanos. Su hallazgo aporta evidencia sobre la diversidad de hongos filamentosos presentes en el ambiente, al mismo tiempo que resalta la necesidad de una vigilancia que considere no solo especies típicamente ambientales, sino también aquellas con potencial clínico o agrícola.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran patrones que pueden compararse con los hallazgos reportados por Moreno-Jiménez (2025), evidenciando similitudes y diferencias atribuibles a las características ambientales de cada matriz. En ambos trabajos se observó una predominancia de *Penicillium* y *Cladosporium*, géneros ampliamente distribuidos en ambientes tropicales y conocidos por producir conidias pequeñas y fácilmente dispersables, lo cual explica su presencia tanto en bioaerosoles como en el agua. Asimismo, géneros oportunistas como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* y *Diaporthe* fueron recuperados en ambas matrices, lo que demuestra que la bahía constituye un reservorio de hongos con potencial patogénico o fitopatógeno capaces de transitar entre distintos medios. Sin embargo, se presentaron diferencias reflejando la influencia de las características ambientales específicas de cada medio. En cuanto a la composición de los géneros, ambos estudios coinciden en la abundancia de *Penicillium* y *Cladosporium*, aunque en la investigación acuática, *Penicillium* representa el 26.15% del total de hongos aislados, mientras que, en los bioaerosoles, *Cladosporium* más representativo, lo que sugiere que ciertos géneros son más aptos para dispersarse por el aire debido a su capacidad de producir conidios secos y resistentes a las condiciones atmosféricas. Esta diferencia también se refleja en la diversidad morfológica observada, donde el estudio de Moreno reportó una mayor presencia de hifas hialinas (67.7%), mientras que en los bioaerosoles predominan los hongos melanizados, adaptados a la radiación UV y la desecación. En cuanto a las estructuras reproductivas, el ambiente acuático favoreció una mayor variabilidad, observándose una diversidad amplia de conidióforos y conidios, mientras que los bioaerosoles presentaron una mayor prevalencia de especies ya esporuladas, menos propensas a desarrollar conidios en condiciones aéreas secas. Además, aunque el estudio acuático identificó una mayor diversidad de géneros, como *Pseudocercospora*, *Neopestalotiopsis* y *Setophaeosphaeria*, los bioaerosoles se caracterizaron por una dominancia de géneros con alta capacidad de dispersión aérea y mayor relevancia sanitaria, como *Aspergillus*, *Fusarium* y *Pyrenochaetopsis*.

Un aspecto relevante que emerge de esta comparación es la fuerte interconexión ecológica entre los bioaerosoles y el agua de la bahía, ya que ambos sistemas funcionan como rutas complementarias de dispersión fúngica. La acción del viento, la evaporación, el rompimiento de olas, la resuspensión de partículas y el transporte de microgotas marinas facilitan el intercambio constante de esporas entre el agua y la atmósfera. Este ciclo aire-agua permite que hongos presentes en el agua superficial sean transportados a mayores distancias, mientras que los bioaerosoles depositados pueden reintegrarse a la columna de agua, manteniendo un flujo

bidireccional de microorganismos. En conjunto, estos hallazgos evidencian que la Bahía de Panamá alberga un ecosistema fúngico dinámico y conectado, donde el aire y el agua actúan como sistemas interdependientes que modulan la presencia, dispersión y potencial impacto ecológico y sanitario de los hongos presentes en la región.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- El análisis conjunto de las características morfológicas y moleculares permitió detectar y caracterizar un conjunto diverso de hongos filamentosos presentes en los bioaerosoles de la Bahía de Panamá, evidenciando la circulación aérea de especies con relevancia clínica, agrícola y ambiental.
- La identificación microscópica inicial reveló una alta frecuencia de géneros comunes en ambientes costeros tropicales, como *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, lo cual fue posteriormente corroborado mediante la secuenciación de las regiones ITS y LSU y su análisis filogenético.
- Entre las especies recuperadas se confirmaron *Fusarium* sp., *Penicillium citreonigrum*, *Talaromyces pinophilus*, *Cladosporium tenuissimum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Penicillium paxilli*, *Aspergillus puniceus*, *Aspergillus calidoustus*, *Penicillium citrinum*, *Pyrenochaetopsis microspora*, *Diaporthe phaseolorum*, *Penicillium crustosum*, *Schizophyllum commune*, *Allophoma minor* y *Phaeosphaeria breonadiae*, entre otras asignaciones a nivel de género. Este conjunto de cepas, compuesto por especies patógenas oportunistas como saprótrofas demuestra que los bioaerosoles marinos de la Bahía actúan como un reservorio y vehículo para la dispersión de hongos potencialmente riesgosos para la salud humana, especialmente en poblaciones inmunocomprometidas.
- Asimismo, la reconstrucción filogenética permitió esclarecer las relaciones evolutivas entre los aislamientos, confirmando identidades específicas en casos complejos como *Trichoderma longibrachiatum*, *Allophoma minor* y *Pyrenochaetopsis microspora* y revelando la necesidad de análisis multigénicos adicionales para algunas especies donde los marcadores resultaron insuficientes o inconsistentes.
- La ausencia de amplificación LSU en ciertos aislamientos también indica la presencia de variaciones genéticas, inhibición por contaminantes ambientales o limitaciones de este marcador para algunos grupos fúngicos.
- En conjunto, este estudio demuestra que los hongos presentes en el aire de la Bahía de Panamá representan un componente relevante del ecosistema microbiano costero y reafirman la importancia de integrar herramientas morfológicas y moleculares para evaluar con precisión su diversidad y su posible impacto sobre la salud pública. Estos hallazgos aportan evidencia local que puede servir como línea base para futuros programas de monitoreo ambiental, estudios epidemiológicos y análisis ecológicos sobre la dinámica de los bioaerosoles fúngicos en zonas costeras tropicales.

4.2 Recomendaciones

- Realizar nuevos muestreos en los sitios estudiados con el fin de comparar los patrones de diversidad fúngica detectados en diferentes momentos. La repetición del muestreo permitirá evaluar posibles variaciones temporales o estacionales en la composición de los bioaerosoles e identificar fluctuaciones en la presencia de especies patógenas. Asimismo, muestreos más frecuentes podrían ayudar a detectar eventos puntuales de alta dispersión fúngica asociados a condiciones ambientales o actividades antropogénicas.
- Desarrollar futuras investigaciones centradas en un grupo fúngico específico, ya sea un conjunto particular como hongos dematiáceos o pulverulentos, o un género de interés clínico o ambiental. Este enfoque especializado facilitará la profundización en los análisis morfológicos y moleculares, permitiendo la implementación de marcadores genéticos específicos (como *TEF1- α* , *TUB2*, *CAL*, etc.). La aplicación de estos marcadores adicionales contribuirá a obtener identificaciones taxonómicas más precisas y a construir relaciones filogenéticas de mayor resolución.
- Implementar estrategias de conservación a largo plazo para los aislados fúngicos mediante preservación con glicerol al 30%, asegurando la disponibilidad y viabilidad de las cepas para estudios futuros.

Referencias bibliográficas

- Abdel Hameed, A. A., Khoder, M. I., Ibrahim, Y. H., Saeed, Y., Osman, M. E., y Ghanem, S. (2012). Study on some factors affecting survivability of airborne fungi. *The Science of the total environment*, 414, 696–700. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.10.042>.
- Abrego, N., Furneaux, B., Hardwick, B., Somervuo, P., Palorinne, I., Aguilar-Trigueros, C. A., Andrew, N. R., Babiy, U. V., Bao, T., Bazzano, G., Bondarchuk, S. N., Bonebrake, T. C., Brennan, G. L., Bret-Harte, S., Bässler, C., Cagnolo, L., Cameron, E. K., Chapurlat, E., Creer, S., D'Acqui, L. P., ... Ovaskainen, O. (2024). Airborne DNA reveals predictable spatial and seasonal dynamics of fungi. *Nature*, 631(8022), 835–842. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07658-9>
- Adams, T. H. (1995). Asexual sporulation in higher fungi. *The growing fungus*, 367-382.
- Adelusi, O. A., Gbashi, S., Adebisi, J. A., Makhuvele, R., Adebo, O. A., Aasa, A. O., Targuma, S., Kah, G., y Njobeh, P. B. (2022). Variability in metabolites produced by *Talaromyces pinophilus* SPJ22 cultured on different substrates. *Fungal biology and biotechnology*, 9(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s40694-022-00145-8>
- Al-Hatmi, A. M. S., Meis, J. F., y de Hoog, G. S. (2016). *Fusarium: Molecular diversity and intrinsic drug resistance*. *PLOS Pathogens*, 12(4), e1005464. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005464>
- Almaguer Chávez, M., Sánchez Espinosa, K. C., Irene, T., y Flores, R. (2014). El género *Cladosporium* en la atmósfera del Occidente de Cuba: pasado, presente y futuro. *Revista cubana de ciencias biológicas artículo de revisión revista cubana de ciencias biológicas*, 3(3), 8-17.
- Al-Shaarani, A. A. Q. A., y Pecoraro, L. (2024). A review of pathogenic airborne fungi and bacteria: unveiling occurrence, sources, and profound human health implication. *Frontiers in microbiology*, 15, 1428415. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1428415>
- Arastehfar, A., Carvalho, A., Houbraken, J., Lombardi, L., Garcia-Rubio, R., Jenks, J. D., Rivero-Menendez, O., Aljohani, R., Jacobsen, I. D., Berman, J., Oshero, N., Hedayati, M. T., Ilkit, M., Armstrong-James, D., Gabaldón, T., Meletiadi, J., Kostrzewa, M., Pan, W., Lass-Flörl, C., Perlin, D. S., ... Hoenigl, M. (2021). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis: From basics to clinics. *Studies in mycology*, 100, 100115. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100115>
- Arenas, G. (2014). *Micología médica ilustrada. Generalidades de los hongos. Dermatofitosis*. México: McGraw-Hill Interamericana.
- Ashu, E. E., y Xu, J. (2015). The roles of sexual and asexual reproduction in the origin and dissemination of strains causing fungal infectious disease outbreaks. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 36, 199–209. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.09.019>.
- Atkins, S. D., y Clark, I. M. (2004). Fungal molecular diagnostics: a mini review. *J Appl Genet*, 45(1), 3-15.

- Barberán, A., Ladau, J., Leff, J. W., Pollard, K. S., Menninger, H. L., Dunn, R. R., y Fierer, N. (2015). Continental-scale distributions of dust-associated bacteria and fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(18), 5756–5761. <https://doi.org/10.1073/pnas.1420815112>
- Barnett, H. L., y Hunter, B. B. (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. American Phytopathological Society Press.
- Beekman, M., Nieuwenhuis, B., Ortiz-Barrientos, D., y Evans, J. P. (2016). Sexual selection in hermaphrodites, sperm and broadcast spawners, plants and fungi. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 371(1706), 20150541. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0541>
- Behzadi, P., Behzadi, E., y Ranjbar, R. (2014). Dermatophyte fungi: infections, diagnosis and treatment. *SMU medical journal*, 1(2), 50-59.
- Bennett, R. J., y Turgeon, B. G. (2016). Fungal Sex: The Ascomycota. *Microbiology spectrum*, 4(5), 10.1128/microbiolspec.FUNK-0005-2016. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0005-2016>
- Benny, G. L., Humber, R. A., y Morton, J. B. (2001). Zygomycota: zygomycetes. In *Systematics and Evolution: Part A* (pp. 113-146). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J. Z., y Crous, P. W. (2012). *The genus Cladosporium*. *Studies in Mycology*, 72, 1–401. <https://doi.org/10.3114/sim0003>
- Bhunjun, C. S., Niskanen, T., Suwannarach, N., Wannathes, N., Chen, Y. J., McKenzie, E. H., ... y Lumyong, S. (2022). The numbers of fungi: are the most speciose genera truly diverse?. *Fungal Diversity*, 114(1), 387-462.
- Bitew A. (2018). Dermatophytosis: Prevalence of Dermatophytes and Non-Dermatophyte Fungi from Patients Attending Arsho Advanced Medical Laboratory, Addis Ababa, Ethiopia. *Dermatology research and practice*, 2018, 8164757. <https://doi.org/10.1155/2018/8164757>
- Borman, A. M., y Johnson, E. M. (2023). Changes in fungal taxonomy: mycological rationale and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews*, 36(4), e00099-22. <https://doi.org/10.1128/cmr.00099-22>
- Brown, S. P., Rigdon-Huss, A. R., y Jumpponen, A. (2014). Analyses of ITS and LSU gene regions provide congruent results on fungal community responses. *Fungal Ecology*, 9(1), 65–68. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.02.002>
- Campbell, C.K., Johnson, E.M. y Warnock, D.W. (2013) Identification of Pathogenic Fungi. 2nd Edition, Blackwell Publishing Ltd., West Sussex, 263-304. <https://doi.org/10.1002/9781118520055>
- Carris, L. M., Little, C. R., y Stiles, C. M. (2012). Introduction to fungi. *The Plant Health Instructor*. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2012-0426-01>
- Casadevall, A., y Pirofski, L. (2001). Host-pathogen interactions: the attributes of virulence. *The Journal of infectious diseases*, 184(3), 337–344. <https://doi.org/10.1086/322044>
- Cepero de García, M. C. (2012). Biología de hongos. *Ediciones Uniandes-Universidad de los Andes*.

- Chen, Q., Jiang, J. R., Zhang, G. Z., Cai, L., y Crous, P. W. (2015). Resolving the Phoma enigma. *Studies in mycology*, 82, 137–217. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.10.003>
- Christopher, Y., Aguilar, C., Gálvez, D., Wcislo, W. T., Gerardo, N. M., y Fernández-Marín, H. (2021). Interactions among *Escovopsis*, Antagonistic Microfungi Associated with the Fungus-Growing Ant Symbiosis. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(12), 1007. <https://doi.org/10.3390/jof7121007>
- Christopher, Y., Aguilar, C., Gálvez, D., Wcislo, W. T., Gerardo, N. M., y Fernández-Marín, H. (2021). Interactions among *Escovopsis*, Antagonistic Microfungi Associated with the Fungus-Growing Ant Symbiosis. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(12), 1007. <https://doi.org/10.3390/jof7121007>
- Coelho, M. A., Bakkeren, G., Sun, S., Hood, M. E., y Giraud, T. (2017). Fungal Sex: The Basidiomycota. *Microbiology spectrum*, 5(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0046-2016>
- Cole, G. T. (1996). Basic biology of fungi. *Medical Microbiology*. 4th edition.
- de Gruyter, J., Woudenberg, J. H., Aveskamp, M. M., Verkley, G. J., Groenewald, J. Z., y Crous, P. W. (2013). Redisposition of phoma-like anamorphs in Pleosporales. *Studies in mycology*, 75(1), 1–36. <https://doi.org/10.3114/sim0004>
- Delgado, A., Prieto, S., Amich, S. y Salve, M. (1994). Laboratorio de microbiología. Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- Dos Santos, T. T., de Souza Leite, T., de Queiroz, C. B., de Araújo, E. F., Pereira, O. L., y de Queiroz, M. V. (2016). High genetic variability in endophytic fungi from the genus *Diaporthe* isolated from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Brazil. *Journal of applied microbiology*, 120(2), 388–401. <https://doi.org/10.1111/jam.12985>
- Dube, H. C. (2013). An introduction to fungi. *Scientific Publishers*.
- Dyer, P. S., y Kück, U. (2017). Sex and the Imperfect Fungi. *Microbiology spectrum*, 5(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0043-2017>
- Egbuta, M. A., Mwanza, M., y Babalola, O. O. (2017). Health Risks Associated with Exposure to Filamentous Fungi. *International journal of environmental research and public health*, 14(7), 719. <https://doi.org/10.3390/ijerph14070719>
- Estrada Salazar, G. y Ramírez Galeano, M. (2019). *Micología General*. Colombia: Universidad Católica de Manizales.
- Feijóo-Vivas, K., Bermúdez-Puga, S. A., Hernán-Rebolledo, Figueroa, J. M., Zamora, P., y Naranjo-Briceño, L. (2021). Fungal mycelium-bioproductions development: A new material culture and its impact on the transition to a sustainable economy. *Bionatura*, 6(1), 1637-1652. Centro de Biotecnología y Biomedicina, Clinical Biotec. Universidad Católica del Oriente (UCO), Univesidad Yachay Tech. <https://doi.org/10.21931/RB/2021.06.01.29>
- Fernández, N. B., y Davel, G. (2019). Micosis de declaración obligatoria: utopía o realidad. Una cuestión olvidada por resolver. *Revista argentina de microbiología*, 51(2), 101-102. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.04.001>
- Ferráez, L. C., Canché, B. C., y James, A. (2004). La vida sexual de los hongos (y su clave molecular). *Ciencia - Academia Mexicana de Ciencias*, 55(4), 64-69.

- Fröhlich-Nowoisky, J., Pickersgill, D. A., Després, V. R., y Pöschl, U. (2009). High diversity of fungi in air particulate matter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31), 12814–12819. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811003106>
- Gallardo Martínez, C. E., Griffith Jaén, Y. J., Rojas Marín, V. A., Martínez, A., y Montañez, D. (2017). *Estudio aeromicológico de la Bahía de Panamá durante la transición de la época seca a la época lluviosa*.
- Garcés de Granada, E., Correa de Restrepo, M., Coba de Gutiérrez, B., Orozco de Amézquita, M., Zapata L., A., Anacona Chingana, A y Sabogal, S. (2003). Morfología y clasificación de los hongos. *Universidad Nacional de Colombia*.
- Gautam, A. K., Verma, R. K., Avasthi, S., Sushma, Bohra, Y., Devadatha, B., Niranjana, M., y Suwannarach, N. (2022). Current Insight into Traditional and Modern Methods in Fungal Diversity Estimates. *Journal of Fungi*, 8(3), 226. <https://doi.org/10.3390/jof8030226>
- Gehlöt, P., Purohit, D. K., y Kaur, S. (2012). Anamorphic fungi: an overview. *Phytotechnology: Emerging Trends*, 89.
- Glampedakis, E., Cassaing, S., Fekkar, A., Dannaoui, E., Bougnoux, M. E., Bretagne, S., Neofytos, D., Schreiber, P. W., Hennequin, C., Morio, F., Shadrivova, O., Bongomin, F., Fernández-Ruiz, M., Bellanger, A. P., Arikan-Akdagli, S., Erard, V., Aigner, M., Paolucci, M., Khanna, N., Charpentier, E., ... Lamoth, F. (2021). Invasive Aspergillosis Due to Aspergillus Section Usti: A Multicenter Retrospective Study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 72(8), 1379–1385. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa230>
- Grinn-Gofroñ, A., y Bosiacka, B. (2015). Effects of meteorological factors on the composition of selected fungal spores in the air. *Aerobiologia*, 31(1), 63–72. <https://doi.org/10.1007/s10453-014-9347-1>
- Guarro, J. (2012). Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(1), 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.09.006>
- Gugnani, H. C., y Denning, D. W. (2023). Infection of bats with Histoplasma species. *Medical mycology*, 61(8), myad080. <https://doi.org/10.1093/mmy/myad080>
- Gusmão, L. F. P., y Grandi, R. A. P. (1997). Hyphomycetes com conidioma dos tipos esporodóquio e sinema associados a folhas de Cedrela fissilis (Meliaceae), em Maringá, PR, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 11, 123-134.
- Harris S. D. (2019). Hyphal branching in filamentous fungi. *Developmental biology*, 451(1), 35–39. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2019.02.012>
- Harshman, L. G., y Zera, A. J. (2007). The cost of reproduction: the devil in the details. *Trends in ecology & evolution*, 22(2), 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.10.008>
- Hesse, S. E., Luethy, P. M., Beigel, J. H., y Zelazny, A. M. (2017). *Penicillium citrinum*: Opportunistic pathogen or idle bystander? A case analysis with demonstration of galactomannan cross-reactivity. *Medical mycology case reports*, 17, 8–10. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2017.05.003>
- Hof H. (2020). The Medical Relevance of *Fusarium* spp. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 6(3), 117. <https://doi.org/10.3390/jof6030117>

- Ingraham, J. L., y Ingraham, C. A. (1998). *Introducción a la microbiología. II*. Reverté.
- Iriart, X., Binois, R., Fior, A., Blanchet, D., Berry, A., Cassaing, S., Amazan, E., Papot, E., Carme, B., Aznar, C., y Couppié, P. (2011). Eumycetoma caused by *Diaporthe phaseolorum* (*Phomopsis phaseoli*): a case report and a mini-review of *Diaporthe/Phomopsis* spp invasive infections in humans. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 17(10), 1492–1494. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03568.x>
- Jędryczka, M. (2014). Aeromycology: studies of fungi in aeroplankton. *Folia Biologica et Oecologica*, 10, 18–26. <https://doi.org/10.2478/fobio-2014-0013>
- Kim, K. H., Kabir, E., y Jahan, S. A. (2018). Airborne bioaerosols and their impact on human health. *Journal of environmental sciences (China)*, 67, 23–35. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.08.027>
- King, N., y Auger, P. (2002). Indoor air quality, fungi, and health. How do we stand?. *Canadian family physician Medecin de famille canadien*, 48, 298–302.
- Laosakul, K., Youngchim, S., Chuamanochan, M., Rujiwetpongstorn, R., Tovanabuttra, N., y Chiewchanvit, S. (2020). Phaeohyphomycosis caused by *Diaporthe phaseolorum* in an immunocompetent patient in Thailand: a case report. *Access microbiology*, 2(7), acmi000128. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000128>
- Lee, S. C., y Idnurm, A. (2017). Fungal Sex: The Mucoromycota. *Microbiology spectrum*, 5(2), 10.1128/microbiolspec.funk-0041-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0041-2017>
- Lee, S. C., Billmyre, R. B., Li, A., Carson, S., Sykes, S. M., Huh, E. Y., Mieczkowski, P., Ko, D. C., Cuomo, C. A., y Heitman, J. (2014). Analysis of a food-borne fungal pathogen outbreak: virulence and genome of a *Mucor circinelloides* isolate from yogurt. *mBio*, 5(4), e01390-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.01390-14>
- Lee, S. C., Ni, M., Li, W., Shertz, C., y Heitman, J. (2010). The evolution of sex: a perspective from the fungal kingdom. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 74(2), 298–340. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00005-10>
- Li, Y., Steenwyk, J. L., Chang, Y., Wang, Y., James, T. Y., Stajich, J. E., Spatafora, J. W., Groenewald, M., Dunn, C. W., Hittinger, C. T., Shen, X. X., y Rokas, A. (2021). A genome-scale phylogeny of the kingdom Fungi. *Current biology: CB*, 31(8), 1653–1665.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.01.074>
- Li, Y., Yao, S., Pu, G., y Yang, P. S. (2025). Isoquinoline alkaloids from endophytic fungus *Aspergillus puniceus* and their potential as inhibitors for tobacco powdery mildew. *Natural product research*, 39(16), 4742–4750. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2349244>
- Little, C. R., Carris, L. M., y Stiles, C. M. (2012). Introduction to Fungi. *The Plant Health Instructor*.
- Marin-Felix, Y., Hernández-Restrepo, M., Iturrieta-González, I., García, D., Gené, J., Groenewald, J. Z., Cai, L., Chen, Q., Quaedvlieg, W., Schumacher, R. K., Taylor, P. W. J., Ambers, C., Bonthond, G., Edwards, J., Krueger-Hadfield, S. A., Luangsa-Ard, J. J., Morton, L., Moslemi, A., Sandoval-Denis, M., Tan, Y. P., ... Crous, P. W. (2019). Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY

3. *Studies in mycology*, 94, 1–124.
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2019.05.001>
- Marin-Felix, Y., Hernández-Restrepo, M., Iturrieta-González, I., García, D., Gené, J., Groenewald, J. Z., Cai, L., Chen, Q., Quaedvlieg, W., Schumacher, R. K., Taylor, P. W. J., Ambers, C., Bonthond, G., Edwards, J., Krueger-Hadfield, S. A., Luangsa-Ard, J. J., Morton, L., Moslemi, A., Sandoval-Denis, M., Tan, Y. P., ... Crous, P. W. (2019). Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. *Studies in mycology*, 94, 1–124.
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2019.05.001>
- Martínez-Torres, A. O.,
 Mattei, A. S., Severo, C. B., Guazzelli, L. S., Oliveira, F. M., Gené, J., Guarro, J., Cano, J., y Severo, L. C. (2013). Cutaneous infection by *Diaporthe phaseolorum* in Brazil. *Medical mycology case reports*, 2, 85–87.
<https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2013.03.001>
- Medina, R. D. F. (2012). Algunas reflexiones sobre la clasificación de los organismos vivos. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*, 19, 883-898.
<https://doi.org/10.1590/S0104-59702012000300006>
- Meena, L. K., y Jambhulkar, P. P. (2024). *Molecular identification and phylogenetic analysis of Trichoderma species. International Journal of Advanced Biochemistry Research*, 8(11S), 414–420.
<https://doi.org/10.33545/26174693.2024.v8.i11Sf.2917>
- Mendoza, L., Vilela, R., Voelz, K., Ibrahim, A. S., Voigt, K., y Lee, S. C. (2014). Human Fungal Pathogens of Mucorales and Entomophthorales. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(4), a019562.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019562>
- Metin, B., y Heitman, J. (2017). Sexual Reproduction in Dermatophytes. *Mycopathologia*, 182(1-2), 45–55. <https://doi.org/10.1007/s11046-016-0072-x>
- Mohaghegh, F., Rajabi, P., Nabavinejad, S., y Tavousi Tabatabaei, E. (2022). A report of unusual case of acquired dermal melanocytosis on the scalp of a Caucasian man with a literature review. *Case Reports in Dermatology*, 14(3), 368–376. <https://doi.org/10.1159/000528353>
- Mok, T., Koehler, A. P., Yu, M. Y., Ellis, D. H., Johnson, P. J., y Wickham, N. W. (1997). Fatal *Penicillium citrinum* pneumonia with pericarditis in a patient with acute leukemia. *Journal of clinical microbiology*, 35(10), 2654–2656.
<https://doi.org/10.1128/jcm.35.10.2654-2656.1997>
- Money, N. P. (2016). *Fungi: a very short introduction. Oxford University Press.*
- Montiel, H. V. (2004). Patógenos emergentes en micosis cutáneas y sistémicas. *Dermatología venezolana*, 42(2).
- Moreno, X., Martínez, G., y Macero, C. (2016). Hongos filamentosos patógenos y emergentes en el departamento de microbiología del instituto médico la floresta Caracas-Venezuela. *Acta Científica De La Sociedad Venezolana De Bioanalistas Especialistas*, 17(2).
- Moreno-Jiménez, A. (2025). Detección Molecular de Hongos Filamentosos Patógenos aislados del agua de 12 sitios de la Bahía De Panamá. [Tesis de Licenciatura]. Universidad de Panamá, Panamá.

- Morrow, C. A., y Fraser, J. A. (2009). Sexual reproduction and dimorphism in the pathogenic basidiomycetes. *FEMS yeast research*, 9(2), 161–177. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00475.x>
- Mot, J. M. (2023). Bioaerosoles fúngicos en una avenida de la ciudad de Santo Domingo. *Ciencia, Ambiente y Clima*, 6(1), 85–97. <https://doi.org/10.22206/cac.2023.v6i1.pp85-97>
- Naranjo-Ortiz, M. A., y Gabaldón, T. (2019). Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews*, 94(6), 2101-2137. <https://doi.org/10.1111/brv.12550>
- Nasiri-Jahrodi, A., Sheikholeslami, F. M., y Barati, M. (2023). Cladosporium tenuissimum-induced sinusitis in a woman with immune-deficiency disorder. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 54(2), 637–643. <https://doi.org/10.1007/s42770-023-00978-4>
- Newbound, M., Mccarthy, M. A., y Lebel, T. (2010). Fungi and the urban environment: A review. *Landscape and urban planning*, 96(3), 138-145. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2010.04.005>
- Ni, M., Feretzaki, M., Sun, S., Wang, X., y Heitman, J. (2011). Sex in fungi. *Annual review of genetics*, 45, 405–430. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132536>
- Nwofor, C. N., Onyenwe, N. E., y Osuoha, C. B. (2024). Pathogenicity and enzyme screening of some selected non-dermatophytic moulds. *Access microbiology*, 6(7), 000683.v5. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000683.v5>
- Ogórek, R., Lejman, A., Pusz, W., Miłuch, A., y Miodyńska, P. (2012). Characteristics and taxonomy of Cladosporium fungi. *Mikologia lekarska*, 19(2), 80-85.
- Okano, T., Kobayashi, N., Izawa, K., Yoshinari, T., y Sugita-Konishi, Y. (2020). Whole Genome Analysis Revealed the Genes Responsible for Citreoviridin Biosynthesis in *Penicillium citreonigrum*. *Toxins*, 12(2), 125. <https://doi.org/10.3390/toxins12020125>
- Okoroafor, C. D., Suryadevara, M., Gaba, P., y Jen, P. (2024). A Case of Aspergillus calidoustus Thoracic Spine Osteomyelitis. *Cureus*, 16(7), e65667. <https://doi.org/10.7759/cureus.65667>
- Pastor, F. J., y Guarro, J. (2008). Alternaria infections: laboratory diagnosis and relevant clinical features. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 14(8), 734–746. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02024.x>
- Paterson, R. R. M., Solaiman, Z., y Santamaria, O. (2023). Guest edited collection: fungal evolution and diversity. *Scientific reports*, 13(1), 21438. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48471-0>
- Pemán, J., y Quindós, G. (2014). Aspectos actuales de las enfermedades invasivas por hongos filamentosos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 31(4), 213-218. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2014.07.003>
- Peraza-Reyes, L., y Malagnac, F. (2016). 16 Sexual Development in Fungi. *Growth, differentiation and sexuality*, 407-455.
- Pitt, J. I., y Hocking, A. D. (2022). Zygomycetes. In *Fungi and food spoilage* (pp. 201-230). Cham: Springer International Publishing.

- Powers-Fletcher, M. V., Kendall, B. A., Griffin, A. T., y Hanson, K. E. (2016). Filamentous Fungi. *Microbiology spectrum*, 4(3), <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.DMIH2-0002-2015>
- Raghukumar, S. (2017). Fungi: Characteristics and classification. Fungi in coastal and oceanic marine ecosystems: Marine fungi, 1-15. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-54304-8>
- Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., y Oberlies, N. H. (2017). Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *Journal of natural products*, 80(3), 756–770. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>
- Rohan, R., y Corradi, N. (2013). Searching for clues of sexual reproduction in the genomes of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology*, 6(1), 44–49. [doi:10.1016/j.funeco.2012.01.010](https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.01.010)
- Rokas, A. (2022). Evolution of the human pathogenic lifestyle in fungi. *Nature microbiology*, 7(5), 607–619. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01112-0>
- Rosa, C. A., Keller, K. M., Oliveira, A. A., Almeida, T. X., Keller, L. A., Marassi, A. C., Kruger, C. D., Deveza, M. V., Monteiro, B. S., Nunes, L. M., Astoreca, A., Cavaglieri, L. R., Direito, G. M., Eifert, E. C., Lima, T. A., Modernell, K. G., Nunes, F. I., Garcia, A. M., Luz, M. S., y Oliveira, D. C. (2010). Production of citreoviridin by *Penicillium citreonigrum* strains associated with rice consumption and beriberi cases in the Maranhão State, Brazil. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 27(2), 241–248. <https://doi.org/10.1080/19440040903289712>
- Rúa-Giraldo, Á. L. (2023). Taxonomía de los hongos: un rompecabezas al que le faltan muchas piezas. *Biomédica*, 43, 288-311. <https://doi.org/10.7705/biomedica.7052>
- Ruiz-Camps, I., y Jarque, I. (2014). Enfermedad fúngica invasora por hongos filamentosos en pacientes hematológicos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 31(4), 249-254. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2014.06.002>
- Saleh, D., Milazzo, J., Adreit, H., Tharreau, D., y Fournier, E. (2012). Asexual reproduction induces a rapid and permanent loss of sexual reproduction capacity in the rice fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*: results of in vitro experimental evolution assays. *BMC evolutionary biology*, 12, 42. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-42>
- Sandoval-Denis, M., Gené, J., Sutton, D. A., Wiederhold, N. P., Cano-Lira, J. F., y Guarro, J. (2016). *New species of Cladosporium associated with human and animal infections. Persoonia – Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 36, 281–298. <https://doi.org/10.3767/003158516X691951>
- Sandoval-Denis, M., Sutton, D. A., Martin-Vicente, A., Cano-Lira, J. F., Wiederhold, N., Guarro, J., y Gené, J. (2015). *Cladosporium* Species Recovered from Clinical Samples in the United States. *Journal of clinical microbiology*, 53(9), 2990–3000. <https://doi.org/10.1128/JCM.01482-15>
- Seifert, K. A., y Gams, W. (2001). The taxonomy of anamorphic fungi. In *Systematics and Evolution: Part A* (pp. 307-347). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Seroy, J., Antiporta, P., Grim, S. A., Proia, L. A., Singh, K., y Clark, N. M. (2017). *Aspergillus calidoustus* case series and review of the literature. *Transplant*

- infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*, 19(5), 10.1111/tid.12755. <https://doi.org/10.1111/tid.12755>
- Shelton, B. G., Kirkland, K. H., Flanders, W. D., y Morris, G. K. (2002). Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Applied and environmental microbiology*, 68(4), 1743–1753. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.4.1743-1753.2002>
- Spatafora, J. W., Chang, Y., Benny, G. L., Lazarus, K., Smith, M. E., Berbee, M. L., ... Stajich, J. E. (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 108(5), 1028–1046. <https://doi.org/10.3852/16-042>
- Staben, C. (1995). Sexual reproduction in higher fungi. In *The growing fungus* (pp. 383-402). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Stępańska, D., y Wołek, J. (2005). Variation in fungal spore concentrations of selected taxa associated. *Aerobiologia*, 21(1), 43-52.
- Stranská, M., Džuráková, Z., Prušová, N., Behner, A., Kolouchová, I., Lovecka, P., Řezanka, T., y Kolářik, M. (2022). *Fungal endophytes of Vitis vinifera — plant growth promoters or potentially toxinogenic agents?* *Toxins*, 14(2), 66. <https://doi.org/10.3390/toxins14020066>
- Sun, S., Coelho, M. A., David-Palma, M., Priest, S. J., y Heitman, J. (2019). The Evolution of Sexual Reproduction and the Mating-Type Locus: Links to Pathogenesis of *Cryptococcus* Human Pathogenic Fungi. *Annual review of genetics*, 53, 417–444. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120116-024755>
- Sun, S., y Heitman, J. (2011). Is sex necessary?. *BMC biology*, 9, 56. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-9-56>
- Teoh, P. J., McGuire, E., Borman, A. M., Gorton, R., Wilson, A. J., Merrion, C., y Gant, V. (2024). Invasive *Trichoderma longibrachiatum* infection in a neutropaenic patient. *Medical mycology case reports*, 45, 100656. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2024.100656>
- Tisch, D., y Schmoll, M. (2010). Light regulation of metabolic pathways in fungi. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(5), 1259–1277. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2320-1>
- Valenzuela-Lopez, N., Cano-Lira, J. F., Guarro, J., Sutton, D. A., Wiederhold, N., Crous, P. W., y Stchigel, A. M. (2018). Coelomycetous *Dothideomycetes* with emphasis on the families *Cucurbitariaceae* and *Didymellaceae*. *Studies in mycology*, 90, 1–69. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.11.003>
- Vanbiervliet, Y., Aerts, R., Boon, E., Mercier, T., Jacob, A. S., Peetermans, M., Debackere, K., Lagrou, K., y Maertens, J. (2025). Invasive *Trichoderma longibrachiatum* breakthrough infection in a hematology patient. *Medical mycology case reports*, 49, 100709. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2025.100709>
- Vinale, F., Nicoletti, R., Lacatena, F., Marra, R., Sacco, A., Lombardi, N., D'Errico, G., Digilio, M. C., Lorito, M., y Woo, S. L. (2017). Secondary metabolites from the endophytic fungus *Talaromyces pinophilus*. *Natural Product Research*, 31(15), 1778–1785. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1290624>
- Walker, G.M., y White, N. A. (2017). Introduction to Fungal Physiology. In *Fungi*, K. Kavanagh (Ed.). <https://doi.org/10.1002/9781119374312.ch1>

- Wanasinghe, D. N., y Maharachchikumbura, S. S. N. (2023). Exploring the Diversity and Systematics of *Phaeosphaeriaceae*: Taxonomic Novelties from Ecologically Diverse Habitats and Their Phylogenetic Resolution. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 9(8), 853. <https://doi.org/10.3390/jof9080853>
- White, T. C., Findley, K., Dawson, T. L., Jr, Scheynius, A., Boekhout, T., Cuomo, C. A., Xu, J., y Saunders, C. W. (2014). Fungi on the skin: dermatophytes and Malassezia. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 4(8), a019802. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019802>
- White, T. J.; Bruns, T.; Lee, S. H.; y Taylor, J. W. (1990). PCR protocols: a guide to methods and application. San Diego, 315–322.
- Wilson, A. M., Gabriel, R., Singer, S. W., Schuerg, T., Wilken, P. M., Van der Nest, M. A., y Wingfield, B. D. (2021). Doing it alone: unisexual reproduction in filamentous ascomycete fungi. *Fungal Biology Reviews*, 35, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2020.12.003>
- Wong, T. K. F., Ly-Trong, N., Ren, H., et al. (2025). *IQ-TREE version 3: phylogenomic inference software using complex evolutionary models*. <https://iqtree.org>
- Wyatt R. D. (1977). Production of citrinin by *Penicillium citrinum* in different liquid media. *Poultry science*, 56(4), 1342–1344. <https://doi.org/10.3382/ps.0561342>
- Xu, T., Dai, T., Si, J., y Li, X. (2023). Editorial: Diversity and molecular diagnostics of fungi and oomycetes in plants. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 13, 1305306. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1305306>
- Yilmaz, N., Sandoval-Denis, M., Lombard, L., Visagie, C. M., Wingfield, B. D., y Crous, P. W. (2021). Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. *Persoonia*, 46, 129–162. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2021.46.05>
- Zhou, Y., Y Lingle, C. J. (2014). Paxilline inhibits BK channels by an almost exclusively closed-channel block mechanism. *The Journal of general physiology*, 144(5), 415–440. <https://doi.org/10.1085/jgp.201411259>
- Zukiewicz-Sobczak W. A. (2013). The role of fungi in allergic diseases. *Postepy dermatologii i alergologii*, 30(1), 42–45. <https://doi.org/10.5114/pdia.2013.33377>

Anexos

Tabla 11. Identificación taxonómica de las cepas de hongos estudiados por Sitios de muestreo en la Bahía de Panamá.

Distribución de las cepas estudiadas		
Código de cepa	Sitio de muestreo	Especie
164 Aib	Panamá La Vieja	<i>Fusarium *cf proliferatum</i>
023 Ai	Avenida de los Poetas	<i>Penicillium citreonigrum</i>
047 Ai	Avenida de los Poetas	<i>Penicillium paxilli</i>
244 Ai	Boca la Caja	<i>Aspergillus calidouustus</i>
309 Ai	Las Bóvedas	<i>Cladosporium *cf tenuissium</i>
037 Ai	Avenida de los Poetas	<i>Aspergillus puniceus</i>
171 Ai	Las Bóvedas	<i>Cladosporium *cf tenuissium</i>
112 Aia	Las Bóvedas	<i>Talaromyces pinophilus</i>
64 Ai	Coco del Mar	<i>Penicillium paxilli</i>
266 Ai	Coco del Mar	<i>Diaporthe phaseolorum</i>
15 Ai	Panamá La Vieja	** <i>Cladosporium</i> sp.
24 Ai	Mercado Del Marisco	<i>Penicillium</i> sp.
166 Ai	Las Bóvedas	<i>Pyrenochaetopsis microspora</i>
28 Ai	Panamá La Vieja	<i>Cladosporium tenuissium</i>
17 Ai	Coco del Mar	** <i>Cladosporium</i> sp.
17 Aia	Coco del Mar	<i>Cladosporium *cf tenuissium</i>
17 Aid	Coco del Mar	<i>Cladosporium *cf tenuissium</i>
61 Ai	Coco del Mar	<i>Trichoderma longibranchiatum</i>
203 Ai	Boca la Caja	<i>Penicillium crustosum</i>
12 Ai	Club Unión	<i>Penicillium</i> sp.
009 Ai	Avenida de los Poetas	<i>Schizophyllum commune</i>
104 Ai	Las Bóvedas	<i>Cladosporium tenuissium</i>
63 Ai	Coco del Mar	<i>Phaeosphaeria breonadiae</i>
66 Ai	Coco del Mar	<i>Allophoma minor</i>
31 Ai	Mercado Del Marisco	<i>Cladosporium *cf tenuissium</i>
075 Ai	Avenida de los Poetas	<i>Cladosporium *cf tenuissium</i>

*cf.: *confer* (comparar con).

**Conidiación tipo *Cladosporium*, son los hongos del grupo dematiáceo no identificables.

Tabla 12. Caracterización macroscópica de 27 cepas fúngicas aisladas del aire.

Código de la cepa	Tasa de crecimiento	Micelio aéreo	Textura	Pigmentación del medio (Presente/Ausente)	Exudados (Presente/Ausente)
164 Aib	Rápido	Moderado	Algodonosa	Presente	Ausente
023 Ai	Rápido	Limitado	Pulverulenta	Ausente	Presente
112 Aia	Rápido	Limitado	Afelpada, Pulverulenta	Presente	Ausente
309 Ai	Moderado	Limitado	Aterciopelada, Afelpada	Ausente	Presente
61 Ai	Rápido	Limitado	Granulada, Pulverulenta	Presente	Ausente
47 Ai	Rápido	Limitado	Pulverulenta	Ausente	Ausente
171 Ai	Rápido	Limitado	Pulverulenta, Aterciopelada	Ausente	Ausente
037 Ai	Rápido	Moderado	Afelpada, Pulverulenta	Presente	Presente
24 Ai	Rápido	Limitado	Pulverulenta	Ausente	Ausente
244 Ai	Rápido	Moderado	Afelpada, Pulverulenta	Presente	Presente
17 Aia	Moderado	Limitado	Aterciopelada, Pulverulenta	Ausente	Presente
17 Aid	Moderado	Moderado	Afelpada	Ausente	Presente
20 Ai	Rápido	Limitado	Pulverulenta	Ausente	Ausente
166 Ai	Lento	Moderado	Afelpada	Ausente	Ausente
266 Ai	Lento	Moderado	Algodonosa, Afelpada	Ausente	Presente
28 Ai	Moderado	Limitado	Aterciopelada	Ausente	Ausente
15 Ai	Moderado	Limitado	Aterciopelada, Cartilaginosa	Ausente	Ausente
203 Ai	Rápido	Limitado	Pulverulenta	Ausente	Ausente
12 Ai	Rápido	Limitado	Pulverulenta	Ausente	Ausente
64 Ai	Rápido	Limitado	Pulverulenta	Ausente	Ausente
009 Ai	Rápido	Abundante	Algodonosa	Ausente	Presente
17 Ai	Rápido	Limitado	Pulverulenta, Aterciopelada	Ausente	Ausente
104 Ai	Rápido	Limitado	Aterciopelada, Afelpada	Ausente	Ausente
66 Ai	Moderado	Limitado	Afelpada, Pulverulenta	Ausente	Presente
31 Ai	Rápido	Limitado	Afelpada, Pulverulenta	Ausente	Ausente
63 Ai	Lento	Limitado	Cartilaginosa	Presente	Ausente
075 Ai	Rápido	Limitado	Afelpada, Pulverulenta	Ausente	Ausente

Análisis de electroforesis en gel agarosa al 0.7% de los ADNg extraídos

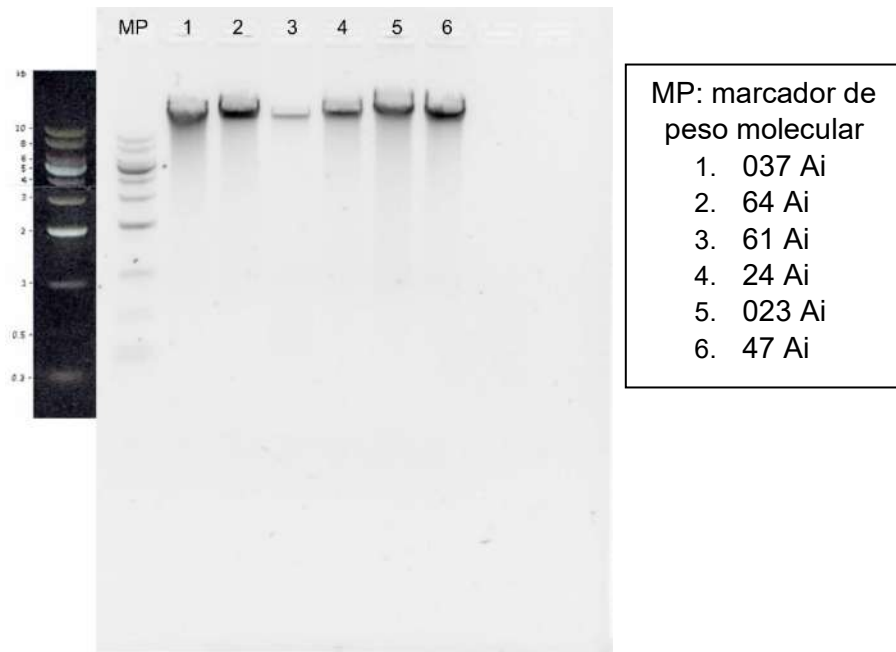


Figura 38. Análisis de electroforesis en gel agarosa al 0.7% de los ADNg extraídos para verificar la cantidad, pureza e integridad. Las celdas del 1 al 6 representan los ADNg extraídos a partir del micelio de los hongos estudiados. El MP es el marcador de peso molecular 1 kbp.

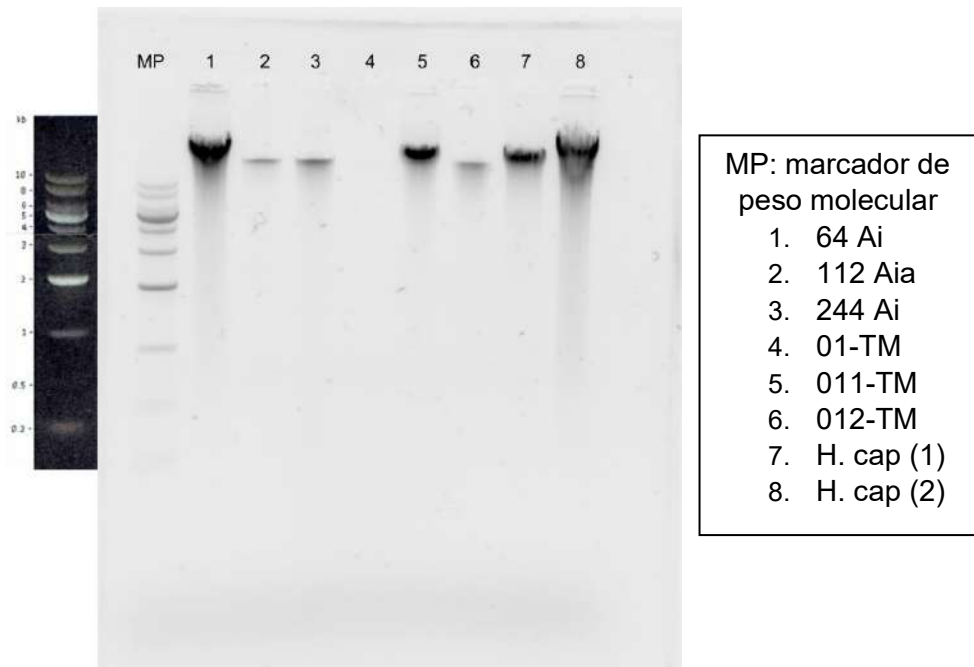


Figura 39. Análisis de electroforesis en gel agarosa al 0.7% de los ADNg extraídos para verificar la cantidad, pureza e integridad. Las celdas del 1 al 6 representan los ADNg extraídos a partir del micelio de los hongos estudiados. El MP es el marcador de peso molecular 1 kbp.

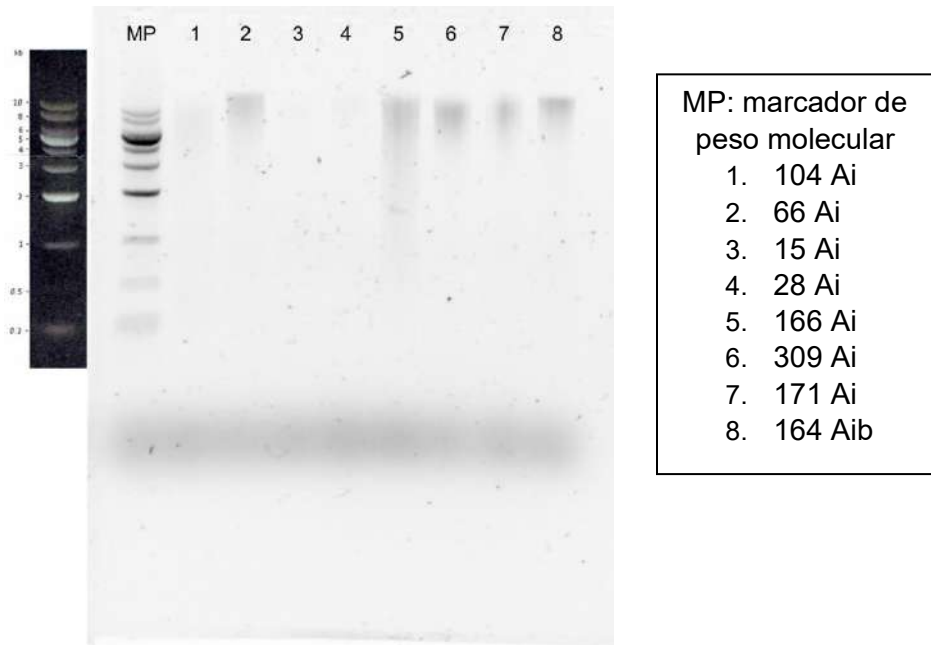


Figura 40. Análisis de electroforesis en gel agarosa al 0.7% de los ADNg extraídos para verificar la cantidad, pureza e integridad. Las celdas del 1 al 6 representan los ADNg extraídos a partir del micelio de los hongos estudiados. El MP es el marcador de peso molecular 1 kbp.

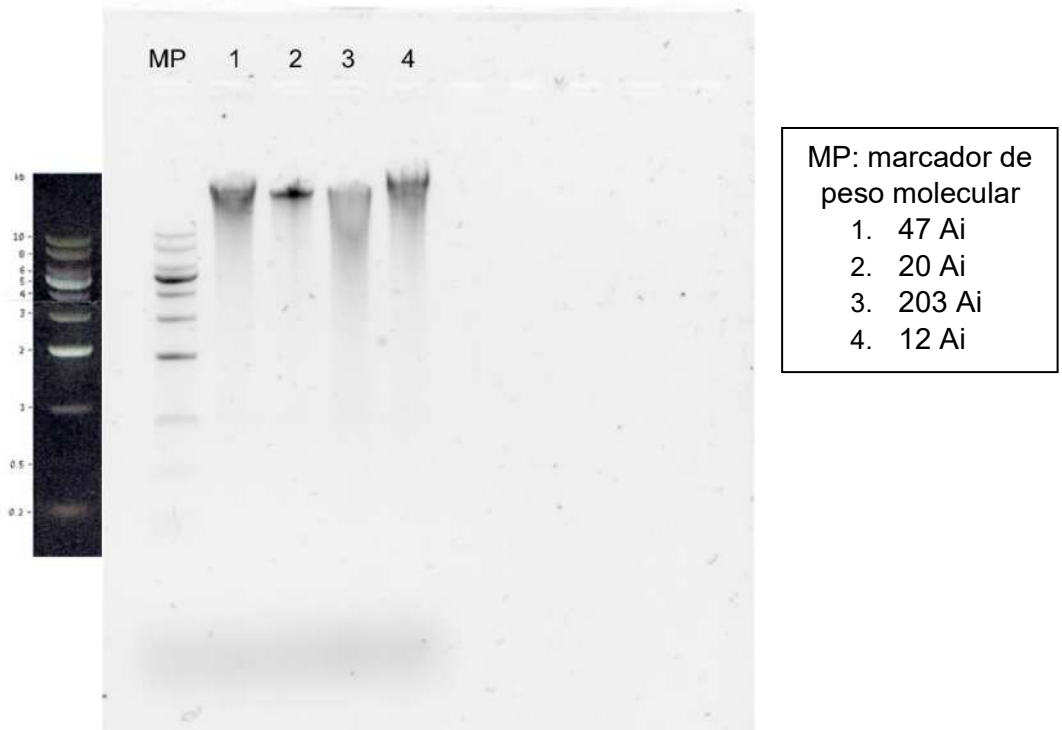


Figura 41. Análisis de electroforesis en gel agarosa al 0.7% de los ADNg extraídos para verificar la cantidad, pureza e integridad. Las celdas del 1 al 6 representan los ADNg extraídos a partir del micelio de los hongos estudiados. El MP es el marcador de peso molecular 1 kbp.

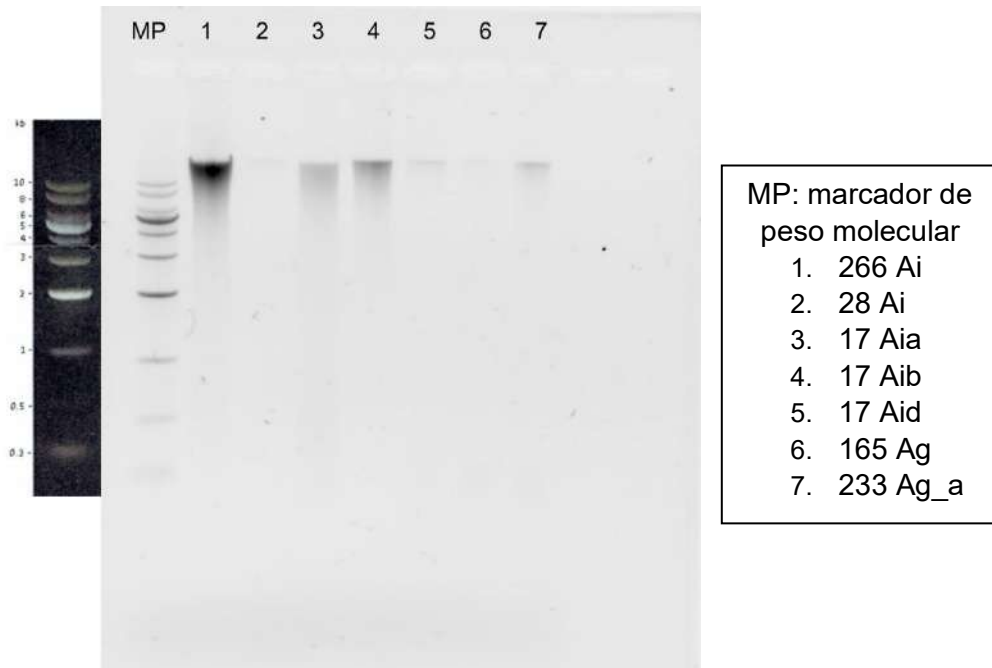


Figura 42. Análisis de electroforesis en gel agarosa al 0.7% de los ADNg extraídos para verificar la cantidad, pureza e integridad. Las celdas del 1 al 6 representan los ADNg extraídos a partir del micelio de los hongos estudiados. El MP es el marcador de peso molecular 1 kbp.

Amplificación de las regiones ITS del ADNg

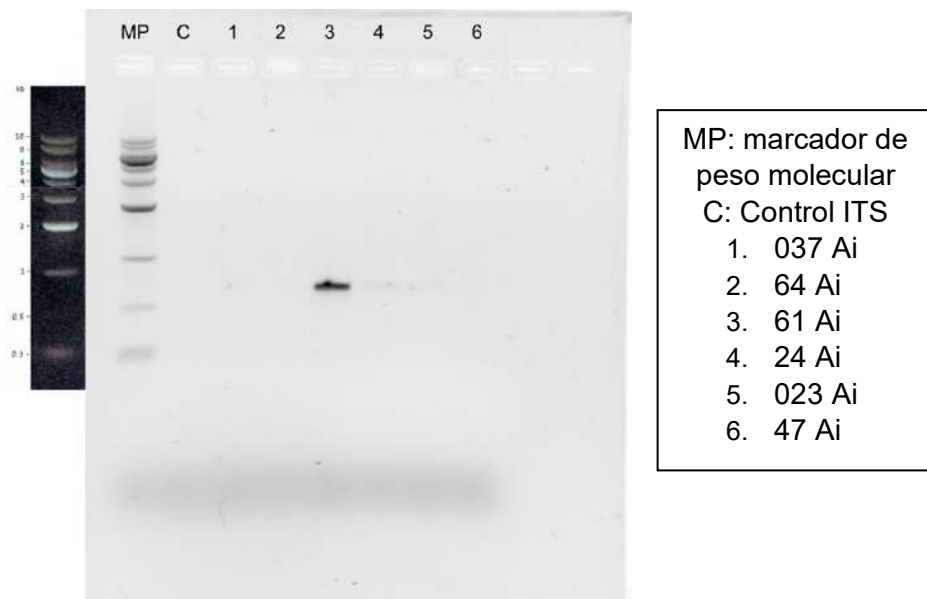


Figura 43. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4µL del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

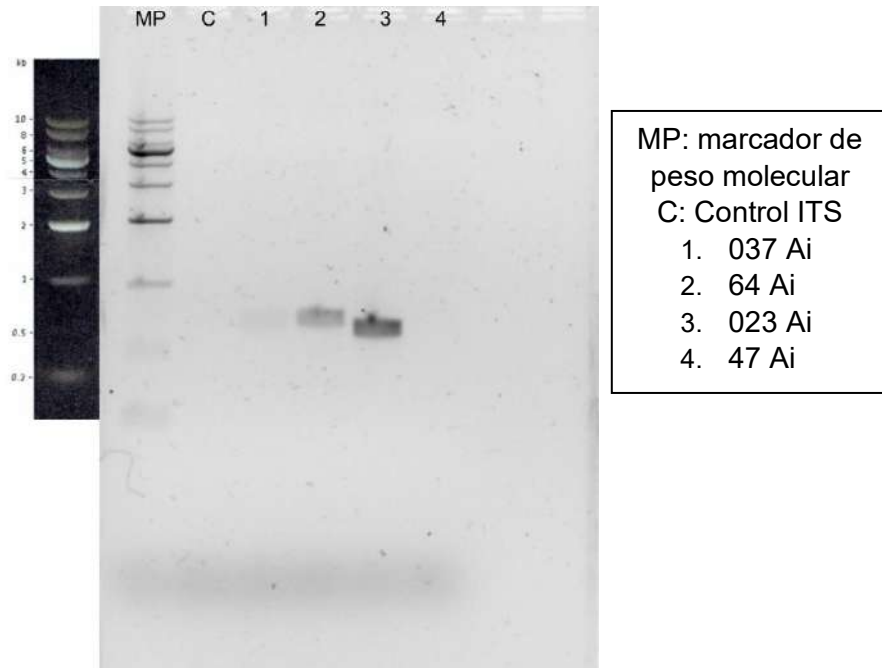


Figura 44. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4µL del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

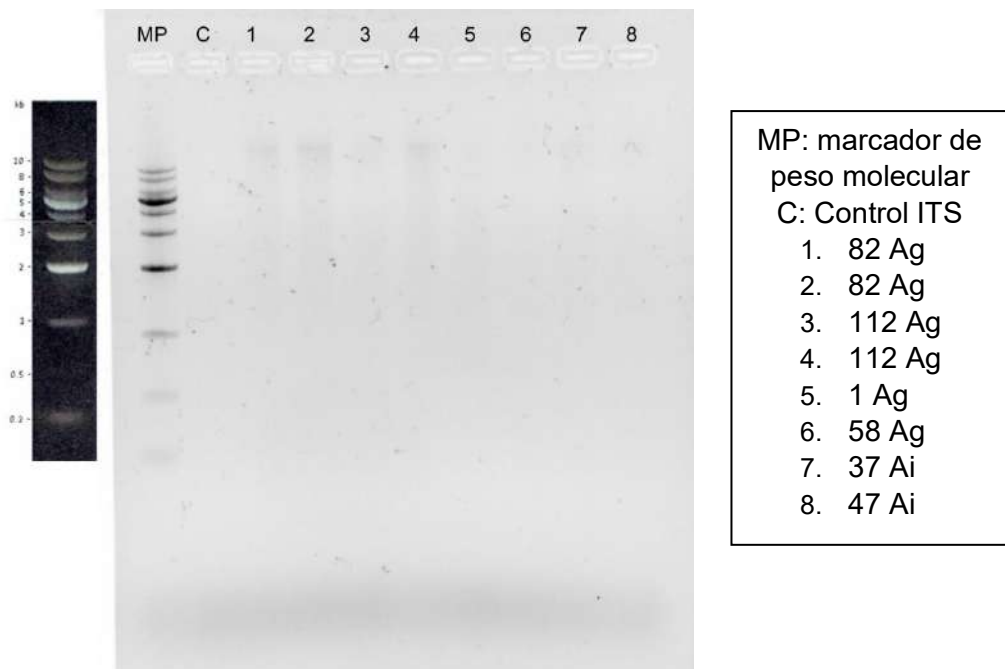


Figura 45. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4µL del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

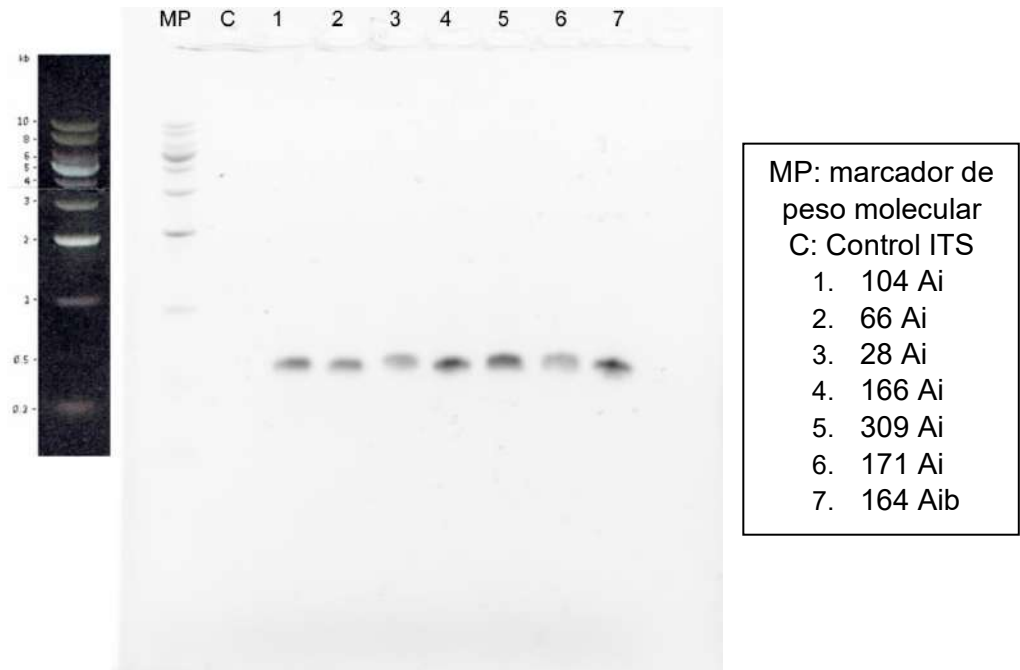


Figura 46. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 μ L del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

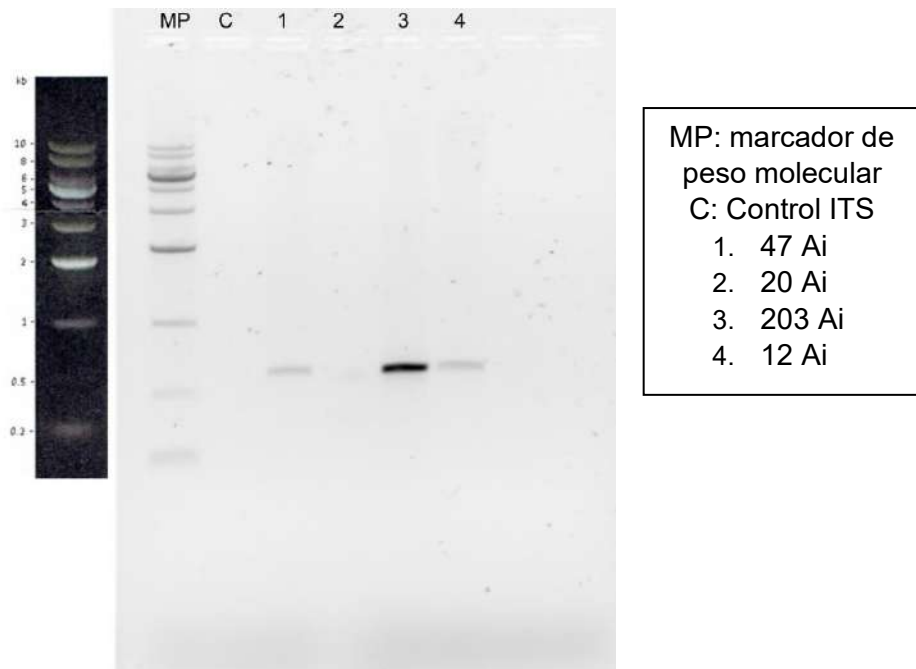


Figura 47. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 μ L del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

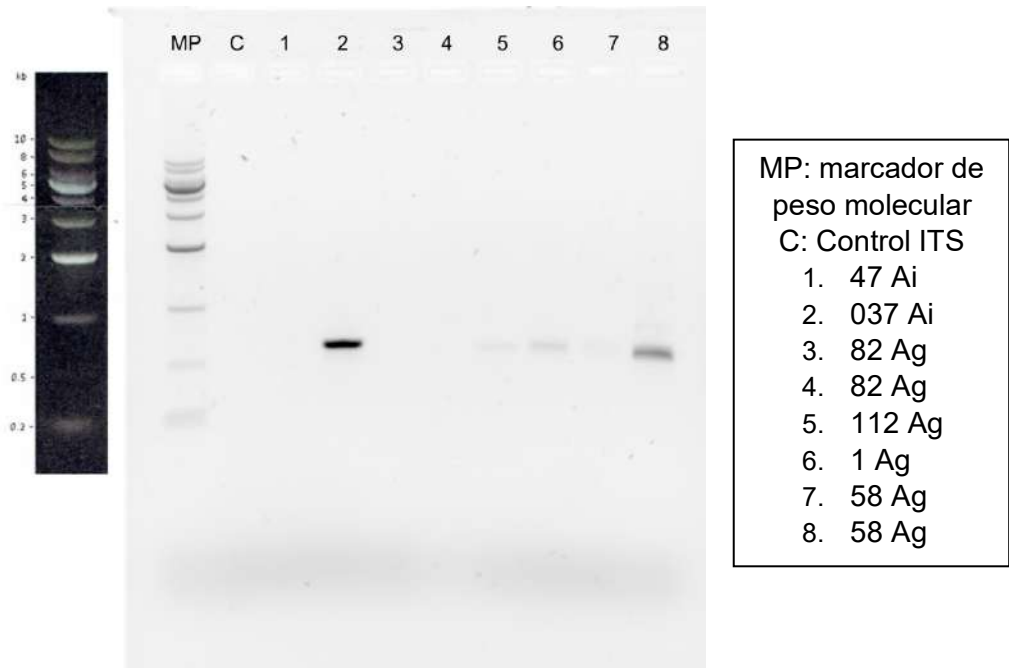


Figura 48. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 μ L del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

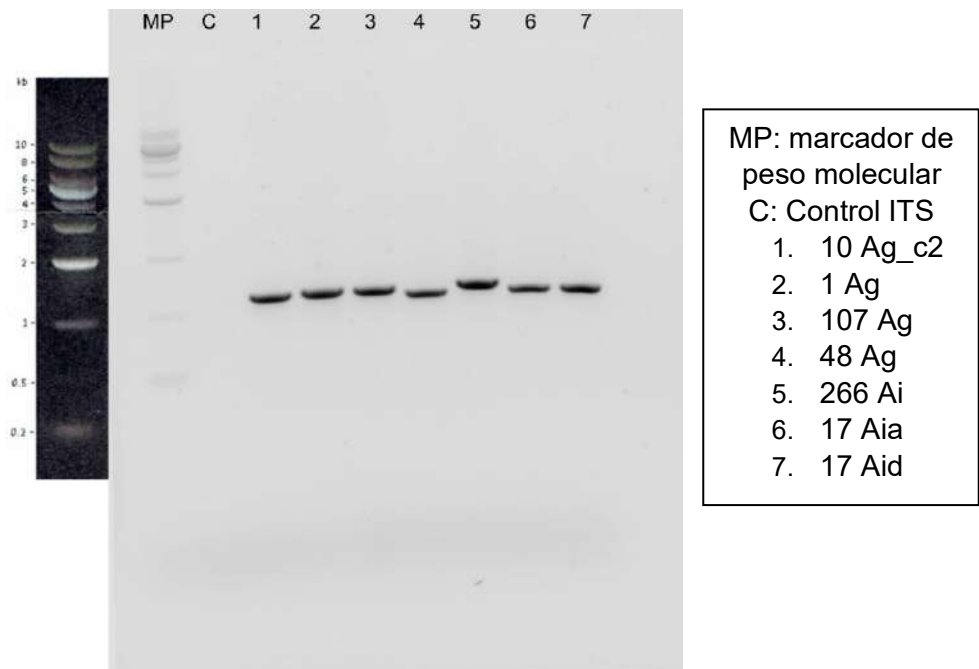


Figura 49. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 μ L del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

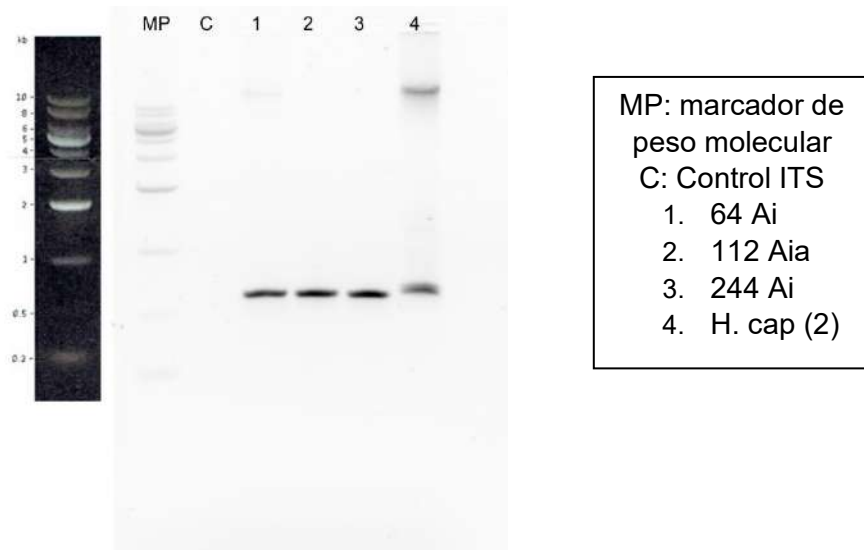


Figura 50. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores ITS5 e ITS4. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4µL del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

Amplificación de las regiones LSU del ADNg

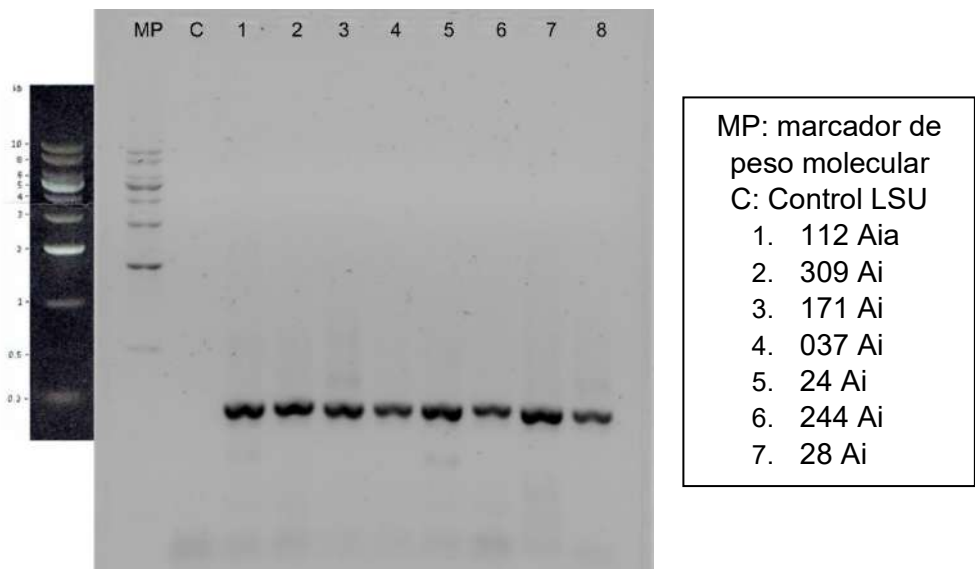
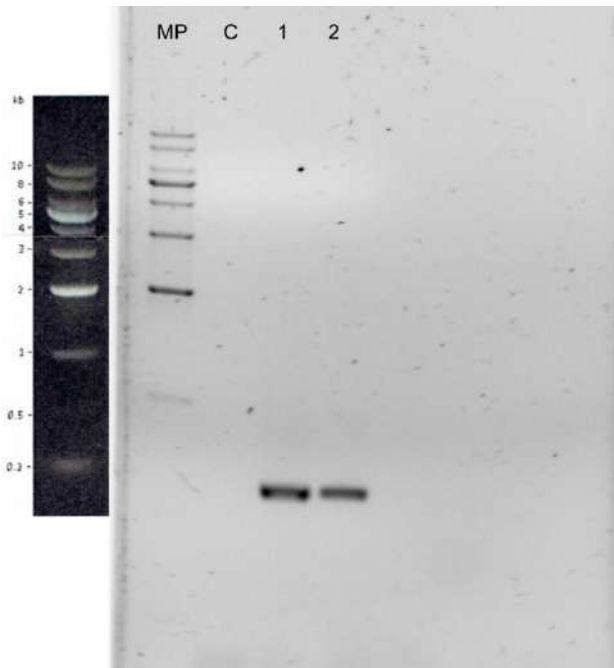
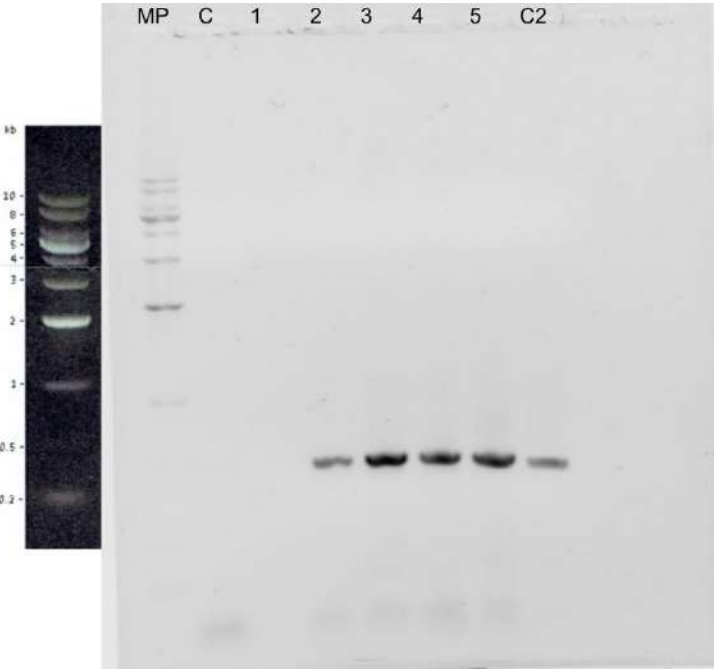


Figura 51. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores CLA-F y CLA-R. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 µL del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).



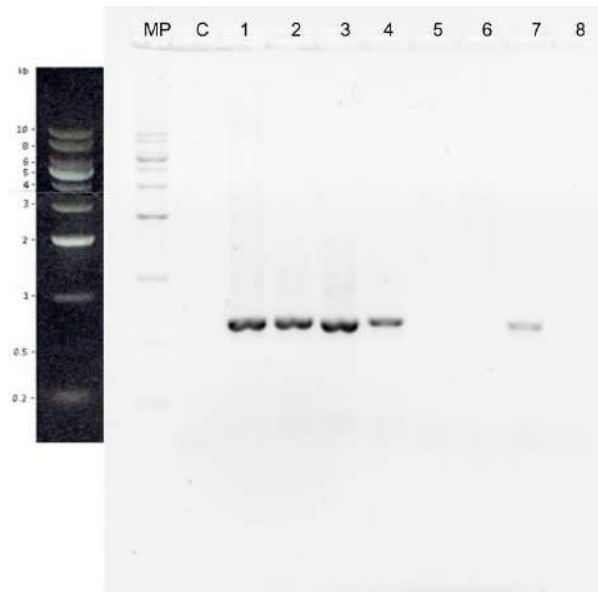
MP: marcador de peso molecular
 C: Control LSU
 1. 104 Ai
 2. 66 Ai

Figura 52. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores CLA-F y CLA-R. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 μ L del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).



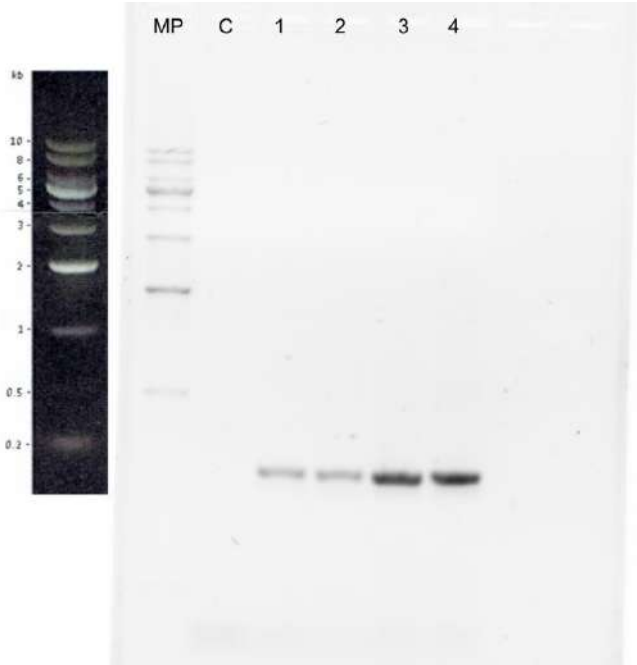
MP: marcador de peso molecular
 C: Control LSU
 1. 166 Ai
 2. 164 Aib
 3. 20 Ai
 4. 64 Ai
 5. 61 Ai
 C2: Control ITS

Figura 53. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores CLA-F y CLA-R. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 μ L del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).



MP: marcador de peso molecular
 C: Control LSU
 1. 023 Ai
 2. 112 Aia
 3. 309 Ai
 4. 171 Ai
 5. 037 Ai
 6. 24 Ai
 7. 244 Ai
 8. 28 Ai

Figura 54. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores CLA-F y CLA-R. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 μ L del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).



MP: marcador de peso molecular
 C: Control LSU
 1. 63 Ai
 2. 266 Ai
 3. 31 Ai
 4. 075 Ai

Figura 55. Análisis de electroforesis en gel agarosa 1%. Amplicones utilizando los cebadores CLA-F y CLA-R. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa a 1%, se corrió a razón de 70 voltios durante una hora y media. 4 μ L del resultado de los amplicones fueron cargados y visualizados con tinción SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).