



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

**SEDE CUENCA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**VALORACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS DE PLANTAS MEDICINALES CON  
POSIBLE USO EN PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN AMBIENTAL**

Trabajo de titulación previo a la obtención del  
título de Ingeniera Ambiental

**AUTORA: MARÍA BELÉN MOLINA ORELLANA**

**TUTOR: DR. MANUEL ERNESTO DELGADO FERNÁNDEZ, Ph.D.**

Cuenca - Ecuador

2025

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Yo, María Belén Molina Orellana con documento de identificación N° 0105501795 manifiesto que:

Soy la autora y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 14 de julio del 2025

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'María Belén Molina Orellana', enclosed within a large, hand-drawn blue oval.

---

María Belén Molina Orellana

0105501795

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, María Belén Molina Orellana con documento de identificación N° 0105501795, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo experimental: “Valoración de hongos endófitos de plantas medicinales con posible uso en procesos de biorremediación ambiental”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera Ambiental, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 14 de julio del 2025

Atentamente,



---

María Belén Molina Orellana

0105501795

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Manuel Ernesto Delgado Fernández con documento de identificación N° 0102073780, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: VALORACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS DE PLANTAS MEDICINALES CON POSIBLE USO EN PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN AMBIENTAL, realizado por María Belén Molina Orellana con documento de identificación N° 0105501795, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 14 de julio del 2025

Atentamente,



Dr. Manuel Ernesto Delgado Fernández, Ph.D.  
0102073780

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo a mi familia, por su amor incondicional, su ejemplo de esfuerzo y por enseñarme a no rendirme ante las dificultades. A mis padres y hermanos, por su apoyo constante, sus consejos y por haber creído siempre en mí. A mis abuelos, tíos, primos y a cada miembro de mi familia, por su cariño, su compañía y sus palabras de aliento. A mis compañeros y amigos, que han sido un bálsamo en todo este proceso, por las risas, el respaldo y los momentos compartidos que hicieron este camino más llevadero. A cada uno de ustedes, gracias por ser parte de este logro.

## **Agradecimiento**

Agradezco a mis docentes por compartir su conocimiento y motivarme a crecer profesionalmente, en especial a mi tutor, el doctor Ernesto Delgado, por su orientación, paciencia y valiosos aportes en cada etapa de esta investigación.

Al personal del laboratorio y a mis compañeros, por compartir su experiencia y brindarme su apoyo en los momentos más exigentes.

A mi familia y amistades, por su comprensión, su ánimo y su compañía durante todo este proceso.

## **Resumen**

El presente trabajo tiene como propósito principal valorar la capacidad de hongos endófitos, aislados de plantas medicinales locales, para su posible aplicación en procesos de biorremediación ambiental. El estudio se orienta a identificar cepas con tolerancia a hidrocarburos, considerando que la contaminación por compuestos derivados del petróleo representa una de las principales amenazas ecológicas y sanitarias a nivel global.

El conocimiento que se persigue con este estudio es doble: por un lado, ampliar la comprensión sobre la biodiversidad microbiana presente en plantas medicinales utilizadas tradicionalmente en Ecuador; y por otro, evaluar el potencial de estas asociaciones simbióticas en la remediación de suelos contaminados. Para ello, se recolectaron muestras vegetales, se aplicaron protocolos de aislamiento microbiológico, y se sometieron las cepas fúngicas a pruebas de tolerancia en medios contaminados con hidrocarburos.

Este trabajo se organizó en seis capítulos. En el primero se presenta la introducción, los objetivos y la justificación. El segundo contiene el marco teórico que sustenta la investigación. El capítulo tres describe la metodología utilizada. En el cuarto se exponen los resultados obtenidos, mientras que el quinto desarrolla su análisis y discusión. Finalmente, en el sexto capítulo se presentan las conclusiones y recomendaciones derivadas del estudio.

## **Abstract**

Medicinal plants have long been used by diverse cultures for their therapeutic properties, especially in regions with high biodiversity such as Ecuador. These plants host communities of endophytic fungi, microorganisms that inhabit plant tissues without causing apparent damage and often establish mutualistic relationships with their hosts. Some of these fungi can improve plant growth, increase tolerance to environmental stress, and produce enzymes capable of transforming toxic compounds.

This study aimed to isolate and characterize endophytic fungi from medicinal plants traditionally used in Ecuador, in order to evaluate their potential tolerance to hydrocarbons. The research included the selection of native plant species, surface sterilization of plant fragments, fungal isolation on potato dextrose agar, and in vitro tests to assess their growth in the presence of used motor oil.

By integrating ethnobotanical knowledge with microbiological techniques, this work highlights the potential of endophytic fungi as sustainable and low-cost alternatives for the bioremediation of contaminated environments. The findings contribute to understanding microbial diversity and its possible applications in environmental management.

## ÍNDICE GENERAL

<b>1. Introducción</b> .....	12
<b>1.1. Planteamiento del problema</b> .....	13
<b>1.2. Delimitación</b> .....	14
<b>1.3. Explicación del problema</b> .....	15
<b>1.4. Objetivos</b> .....	16
<b>1.4.1. Objetivo general</b> .....	16
<b>1.4.2. Objetivos específicos</b> .....	16
<b>1.5. Fundamentación teórica</b> .....	17
<b>1.6. Revisión y análisis bibliográfico y documental</b> .....	18
<b>1.6.1. Rol de los hongos endófitos en ecosistemas vegetales</b> .....	18
<b>1.6.2. Diversidad y características de los hongos endófitos en plantas medicinales</b> .....	20
<b>1.6.3. Potencial de los hongos endófitos en biorremediación</b> .....	21
<b>1.6.4. Plantas medicinales como fuente de hongos endófitos</b> .....	22
<b>1.6.5. Estado del arte</b> .....	25
<b>2. Materiales y Métodos</b> .....	27
<b>2.1. Diseño</b> .....	27
<b>2.2. Población y muestra</b> .....	27
<b>2.3. Consideraciones éticas</b> .....	29
<b>2.4. Procedimiento experimental</b> .....	29
<b>2.5. Variables del estudio</b> .....	32
<b>3. Resultados y discusión</b> .....	32

<b>3.1. Recogida de datos</b> .....	32
<b>3.2. Análisis de los datos</b> .....	33
<b>3.3. Presentación de los datos</b> .....	34
<b>3.4. Discusión</b> .....	36
<b>4. Conclusiones y Recomendaciones</b> .....	38
<b>4.1. Conclusiones</b> .....	38
<b>4.2. Recomendaciones</b> .....	39
<b>5. Bibliografía</b> .....	39
<b>6. Apéndice/Anexos</b> .....	45
<b>Anexo 1. Fotografías de plantas medicinales elegidas</b> .....	45
<b>Anexo 2. Registro fotográfico del aislamiento de hongos endófitos</b> .....	51
<b>Anexo 3. Tablas de descripción macroscópica y microscópica de las cepas aisladas.</b> .....	55
<b>Anexo 4. Pruebas de tolerancia de aislados fúngicos frente a hidrocarburos</b> .....	59
<b>Anexo 4.1. Evidencias fotográficas</b> .....	60
<b>Anexo 4.2. Registro diario</b> .....	67

## **Tablas**

Tabla 1. Plantas medicinales seleccionadas para el aislamiento de hongos endófitos. Elaboración propia. ....	24
Tabla 2. Estado del arte del estudio del problema. Elaboración propia. ....	27

<i>Tabla 3. Diámetro final y porcentaje de inhibición de las pruebas de tolerancia de aislados fúngicos frente a hidrocarburos. Elaboración propia.</i> .....	36
Tabla 4. Descripción macroscópica y microscópica de Infante. Elaboración propia. ....	55
Tabla 5. Descripción macroscópica y microscópica de Ruda. Elaboración propia. ....	56
Tabla 6. Descripción macroscópica y microscópica de Malva. Elaboración propia. ....	56
Tabla 7. Descripción macroscópica y microscópica de Hierba Buena. Elaboración propia. ..	57
Tabla 8. Descripción macroscópica y microscópica de Cedrón. Elaboración propia.....	58
Tabla 9. Descripción macroscópica y microscópica de Hierba Luisa. Elaboración propia. ....	59
Tabla 10. Registro diario de las pruebas de tolerancia de aislados fúngicos frente a hidrocarburos. Elaboración propia.....	67

### **Tabla de Figuras:**

<i>Figura 1. Planta medicinal: Hierba Luisa - Cymbopogon citratus. Elaboración Propia.</i> .....	45
<i>Figura 2. Planta medicinal: Menta - Mentha × piperita. Elaboración propia.</i> .....	46
<i>Figura 3. Planta medicinal: Cedrón - Aloysia citrodora. Elaboración propia.</i> .....	46
<i>Figura 4. Planta medicinal: Llantén - Plantago major. Elaboración propia.</i> .....	47
<i>Figura 5. Planta medicinal: Ruda - Ruta graveolens. Elaboración propia.</i> .....	47
<i>Figura 6. Planta medicinal: Sangorache - Amaranthus quitensis. Elaboración propia.</i> .....	48
<i>Figura 7. Planta medicinal: Manzanilla - Matricaria chamomilla. Elaboración propia.</i> .....	48
<i>Figura 8. Planta medicinal: Romero - Rosmarinus officinalis. Elaboración propia.</i> .....	49
<i>Figura 9. Planta medicinal: Hierba de infante - Clinopodium brownie. Elaboración propia.</i> .....	49
<i>Figura 10. Planta medicinal: Malva - Malva sylvestris. Elaboración propia.</i> .....	50
<i>Figura 11. Planta medicinal: Malva Morada - Lavatera arborea. Elaboración propia.</i> .....	50
<i>Figura 12. Planta medicinal: Hierba Buena – Mentha spicata. Elaboración propia.</i> .....	51

Figura 13. Preparación del medio de cultivo .....	52
Figura 14. Registro fotográfico del aislamiento de hongos endófitos .....	53
Figura 15. Subcultivo de hongos endófitos en medio PDA para obtención de cultivos puros. .....	54
Figura 16. Preparaciones en portaobjetos teñidas con azul de metileno para la observación microscópica de las hifas de hongos endófitos aislados. Elaboración propia.....	55
Figura 17. Pruebas de Tolerancia de aislados fúngicos frente a hidrocarburos.....	59
Figura 18. Registro fotográfico de la tolerancia de la cepa de la Ruda F1 .....	60
Figura 19. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Hierba Luisa F1, F2 y F3 ....	61
Figura 20. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Malva F1, F2 y F3.....	62
Figura 21. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Hierba Buena F1, F2, F4 y F5 .....	64
Figura 22. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Infante F1, F2 y F3 .....	64
Figura 23. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Cedrón F1, F2 y F3 .....	65
Figura 24. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Cedrón F4, F5 y F6 .....	66

## 1. Introducción

El deterioro ambiental ocasionado por la contaminación de suelos y cuerpos de agua con hidrocarburos y metales pesados representa un desafío creciente a nivel mundial, particularmente en países con actividades extractivas como Ecuador (Mrozik & Piotrowska-Seget, 2010; Díaz-Ramírez et al., 2019). En este contexto, las estrategias de biorremediación han cobrado importancia como alternativas sostenibles para la recuperación de ambientes contaminados, siendo los hongos endófitos una de las líneas emergentes con alto potencial en este campo (Hardoim et al., 2015).

Los hongos endófitos, microorganismos que habitan los tejidos vegetales sin causarles daño aparente, han demostrado poseer capacidades metabólicas que les permiten degradar compuestos tóxicos y adaptarse a ambientes hostiles (Aly et al., 2011). Esta capacidad se potencia cuando se asocian a plantas medicinales, las cuales presentan una rica diversidad de metabolitos secundarios que pueden influir en la bioactividad de los endófitos (Kusari et al., 2012).

A pesar de los avances en investigaciones internacionales, en Ecuador existe un vacío significativo en estudios enfocados específicamente en el aislamiento y caracterización de hongos endófitos de plantas medicinales autóctonas y su aplicación en procesos de biorremediación (Jaramillo et al., 2019). Esta línea de estudio resulta estratégica para aprovechar el potencial biotecnológico de la biodiversidad vegetal del país, especialmente considerando los pasivos ambientales generados por actividades industriales, petroleras y mineras.

La presente investigación busca aportar al conocimiento científico y a la conservación sostenible de los recursos vegetales y microbianos mediante el aislamiento y evaluación de hongos endófitos con potencial uso en la degradación de contaminantes. Este enfoque

promueve la integración entre saberes ancestrales y ciencia moderna, favoreciendo alternativas ecológicas aplicables a nivel local (Porrás-Alfaro & Bayman, 2011).

### **1.1. Planteamiento del problema**

La contaminación por hidrocarburos representa una de las principales amenazas ambientales a nivel global, especialmente en regiones donde se desarrollan actividades petroleras, industriales o existe un manejo inadecuado de desechos. Estos compuestos afectan la calidad del suelo, el agua y la biodiversidad, generando consecuencias adversas para los ecosistemas y la salud humana (Haritash & Kaushik, 2009; Organización Mundial de la Salud, 2025). En Ecuador, la presencia de pasivos ambientales derivados de actividades extractivas ha sido documentada ampliamente, con afectaciones visibles en zonas de la Amazonía y la Sierra (Ministerio del Ambiente y Transición Ecológica, 2023).

Frente a esta problemática, la biorremediación surge como una estrategia ecológica y eficiente para la restauración de ambientes contaminados. En particular, el uso de hongos endófitos ha captado la atención de la comunidad científica debido a su capacidad para degradar compuestos tóxicos mediante la producción de enzimas como lacasas, peroxidasas y celulasas (Harms et al., 2011; Rodríguez et al., 2009). Estos microorganismos fúngicos, que viven de forma simbiótica dentro de tejidos vegetales sin causar daño aparente, no solo benefician a sus plantas hospederas al aumentar su tolerancia al estrés, sino que también representan una fuente valiosa de herramientas biotecnológicas.

A pesar del creciente interés en los hongos endófitos con potencial biorremediador, en el contexto ecuatoriano aún existe una escasa caracterización de cepas nativas, especialmente aquellas asociadas a plantas medicinales. Estas especies vegetales, valoradas ancestralmente por sus propiedades curativas, albergan una rica diversidad microbiana que podría ser

aprovechada para el tratamiento de suelos contaminados (Scalvenzi, 2012; Benavides López de Mesa, 2006).

La falta de estudios específicos sobre la relación entre plantas medicinales locales y hongos endófitos con capacidad degradadora limita el desarrollo de soluciones sostenibles basadas en recursos autóctonos. Por tanto, se hace necesario profundizar en la identificación, aislamiento y evaluación de estos microorganismos, lo que permitirá generar alternativas ecológicas para el manejo de sitios impactados por hidrocarburos, fortaleciendo además el conocimiento científico sobre la biodiversidad microbiana del país (Chango Vasconez, 2023; Verma et al., 2022).

## **1.2. Delimitación**

### **Delimitación geográfica:**

La presente investigación se desarrolló en la ciudad de Cuenca, provincia del Azuay, Ecuador. Las actividades de aislamiento de hongos endófitos, pruebas experimentales y análisis de resultados se ejecutan en los laboratorios de microbiología correspondiente a ciencias de la vida la universidad Politécnica Salesiana.

### **Delimitación temporal:**

El estudio se ejecutó durante el período comprendido entre abril y junio de 2025, tiempo en el que se realizó las actividades de recolección, aislamiento de hongos, experimentación en laboratorio, análisis de resultados y redacción del informe final.

### **Delimitación sectorial:**

El trabajo se inscribe en el sector de la investigación científica aplicada, con énfasis en la microbiología ambiental biotecnología ambiental para el posible uso en la remediación de suelos contaminados. El estudio también tiene vinculación con el ámbito de la conservación de

la biodiversidad, al explorar el uso potencial de recursos biológicos locales como agentes de biorremediación.

### **Delimitación institucional:**

Esta investigación forma parte del proceso de titulación de la carrera de Ingeniería Ambiental, bajo la supervisión de la Universidad Politécnica Salesiana. Se adhiere a las normativas institucionales para trabajos experimentales, y contará con la revisión y aval del docente tutor designado. Asimismo, se enmarca en los lineamientos de ética en la investigación, estableciendo el uso responsable de muestras biológicas y el respeto a los saberes tradicionales.

### **1.3. Explicación del problema**

La contaminación del suelo por hidrocarburos es un problema persistente que afecta la calidad ambiental, la salud de los ecosistemas y el bienestar de las comunidades cercanas a zonas urbanas, industriales o de transporte. Aunque existen tecnologías de remediación química y física, muchas de ellas resultan costosas, lentas o ambientalmente agresivas.

En este contexto, la biorremediación mediante el uso de hongos endófitos aparece como una alternativa innovadora y sostenible. Sin embargo, aún persisten interrogantes que limitan su implementación a mayor escala, sobre todo en entornos locales como Cuenca, donde la diversidad microbiana asociada a plantas medicinales tradicionales ha sido poco estudiada.

A partir de esta situación, surgen las siguientes preguntas que guían el trabajo experimental:

- ¿Existen hongos endófitos presentes en las plantas medicinales con capacidad de tolerar hidrocarburos?

- ¿Qué especies fúngicas se pueden aislar de estas plantas y cuáles muestran mayor potencial para ser utilizadas en procesos de biorremediación?
- ¿Qué tan efectiva es la respuesta de crecimiento de estos hongos frente a la exposición a medios contaminados con hidrocarburos en condiciones controladas?

Estas interrogantes orientan la investigación hacia el aislamiento, identificación y evaluación funcional de hongos endófitos con potencial para ser aprovechados en procesos de descontaminación ambiental, contribuyendo al conocimiento científico local y a la búsqueda de soluciones ecológicas frente a la contaminación por compuestos derivados del petróleo.

#### **1.4. Objetivos**

##### **1.4.1. Objetivo general**

Valorar hongos endófitos aislados de plantas medicinales para su posible aplicación en procesos de biorremediación de ambientes contaminados con hidrocarburos.

##### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Aislar hongos endófitos de tejidos vegetales de las plantas medicinales seleccionadas.
- Caracterizar morfológicamente los hongos aislados y conservar cultivos puros para su evaluación posterior.
- Evaluar la tolerancia de los hongos aislados mediante ensayos de crecimiento en cajas Petri con medios contaminados con hidrocarburos.
- Analizar los resultados obtenidos para determinar si los aislamientos presentan características que sugieran un posible uso en procesos de biorremediación ambiental.

### **1.5. Fundamentación teórica**

La presente investigación se fundamenta en la necesidad de comprender y aprovechar la relación simbiótica entre plantas y microorganismos endófitos para enfrentar problemas ambientales actuales, como la contaminación por hidrocarburos. Este tipo de contaminación representa una amenaza creciente para los ecosistemas y de la salud humana, especialmente en territorios con intensa actividad industrial o manejo inadecuado de residuos derivados del petróleo (Haritash & Kaushik, 2009; Organización Mundial de la Salud, 2025).

Frente a esta problemática, la biorremediación se posiciona como una estrategia sostenible y efectiva, caracterizada por su bajo costo, su respeto al medioambiente y su capacidad para degradar compuestos orgánicos persistentes. Particularmente, los hongos endófitos —microorganismos que habitan en los tejidos internos de las plantas sin generar síntomas visibles— constituyen una alternativa innovadora. Diversos estudios han demostrado que estos hongos pueden producir enzimas oxidativas como lacasas, peroxidasas y otras, que transforman compuestos tóxicos en sustancias menos nocivas (Harms, Schlosser & Wick, 2011).

Además, se ha identificado que ciertas plantas medicinales, gracias a su diversidad de metabolitos secundarios y su uso tradicional en contextos ancestrales, albergan comunidades fúngicas con alto potencial bioactivo (Scalvenzi, 2012). La interacción simbiótica entre estas especies vegetales y los hongos endófitos puede inducir adaptaciones fisiológicas y metabólicas que favorecen la tolerancia a ambientes contaminados. Esto incrementa su utilidad en procesos de remediación ambiental (Verma et al., 2022).

No obstante, en el contexto ecuatoriano persiste una brecha considerable en cuanto a la caracterización, aislamiento y aplicación de hongos endófitos con fines ambientales, a pesar de

la vasta riqueza vegetal del país. Al explorar comunidades endofíticas presentes en plantas medicinales locales, esta investigación busca aportar nuevo conocimiento sobre la biodiversidad microbiana ecuatoriana y su potencial aplicación en tecnologías limpias.

De esta manera, el trabajo experimental no solo fortalece la comprensión de las interacciones planta-microorganismo en condiciones de estrés químico, sino que también impulsa el desarrollo de soluciones sostenibles desde la microbiología ambiental. La integración de saberes ancestrales y herramientas científicas de aislamiento y caracterización microbiana configura un enfoque interdisciplinario, orientado a proponer alternativas viables frente a los desafíos ambientales actuales.

## **1.6. Revisión y análisis bibliográfico y documental**

### **1.6.1. Rol de los hongos endófitos en ecosistemas vegetales**

Los hongos endófitos son microorganismos pertenecientes al Reino Fungi que se desarrollan dentro de los tejidos vegetales de manera asintomática, sin provocar daños visibles en sus hospederos. (Petrini, 1991; Hardoim et al., 2015). Esta relación simbiótica puede ser mutualista, donde tanto el hongo como la planta se benefician. Los hongos endófitos contribuyen al crecimiento vegetal, estimulan la resistencia frente a enfermedades, inducen tolerancia al estrés ambiental y, en muchos casos, producen metabolitos secundarios bioactivos (Rodríguez et al., 2009). También se ha documentado la producción de compuestos antimicrobianos y antioxidantes con potencial terapéutico y agrícola (Strobel & Daisy, 2003).

El uso biotecnológico de los hongos endófitos ha cobrado importancia en diversos campos, como la agricultura sostenible y la biorremediación ambiental. En particular, su capacidad para producir enzimas como lacasas, peroxidasas y celulasas permite la degradación de compuestos orgánicos complejos, incluidos contaminantes persistentes como hidrocarburos aromáticos policíclicos y pesticidas (Schulz et al., 2002; Harms et al., 2011). Estas enzimas

juegan un papel fundamental en la transformación de sustancias tóxicas en compuestos menos nocivos para el ambiente (Ballesta,2017). Estas enzimas juegan un papel fundamental en la transformación de sustancias tóxicas en compuestos menos nocivos para el ambiente. Además, se ha reportado que los hongos endófitos pueden contribuir al reciclaje de nutrientes y a la mejora de la fertilidad del suelo, favoreciendo el desarrollo de prácticas agrícolas sostenibles (Gadd, 2010).

Dentro del metabolismo fúngico, también se ha observado la producción de micotoxinas como las aflatoxinas, las cuales son compuestos potencialmente tóxicos para humanos y animales. Sin embargo, la presencia de estas toxinas depende de la especie fúngica, el tipo de planta hospedera y las condiciones ambientales (Frisvad et al., 2006). En contextos controlados y con cepas caracterizadas, el riesgo toxicológico puede ser mitigado, lo cual permite aprovechar los beneficios funcionales de los hongos sin comprometer la seguridad (Kusari et al., 2012).

Desde una perspectiva ecológica, la simbiosis planta-hongo endófito tiene implicaciones profundas en la dinámica de los ecosistemas (Pitt & Miller, 2017). Los hongos actúan como una barrera biológica contra patógenos externos, mejoran la absorción de nutrientes e inducen respuestas sistémicas de defensa en la planta (Stone et al., 2000). Este tipo de interacción es particularmente relevante en ambientes hostiles o contaminados, donde las plantas pueden depender de sus endófitos para sobrevivir y adaptarse.

En conclusión, los hongos endófitos son componentes clave en los ecosistemas vegetales y constituyen una herramienta valiosa para el desarrollo de soluciones biotecnológicas, especialmente en el contexto de la remediación ambiental y la producción agrícola sostenible.

### **1.6.2. Diversidad y características de los hongos endófitos en plantas medicinales**

Los hongos endófitos representan un grupo altamente diverso de microorganismos fúngicos que colonizan de forma interna los tejidos vegetales, estableciendo relaciones principalmente simbióticas sin causar daño aparente a sus hospederos (Arnold et al., 2003). Esta diversidad se refleja tanto a nivel morfológico como genético, con representantes de distintos filos, como Ascomycota, Basidiomycota y Zygomycota (Rodríguez et al., 2009; Maharachchikumura, 2011).

En plantas medicinales, la diversidad endofítica es especialmente notable debido a la complejidad química de estas especies, rica en metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, terpenos y taninos. Estos compuestos no solo confieren propiedades terapéuticas a las plantas, sino que también influyen en la estructura de las comunidades microbianas que las habitan (Strobel & Daisy, 2003; Kusari et al., 2012). En muchos casos, los hongos endófitos de plantas medicinales han demostrado la capacidad de sintetizar los mismos metabolitos que sus hospederos, lo que sugiere una estrecha coevolución funcional entre ambos (Zhao et al., 2010).

Además, los estudios recientes en regiones tropicales como América del Sur han revelado una elevada riqueza de hongos endófitos en especies medicinales nativas, muchas de las cuales permanecen poco caracterizadas (Benavides López de Mesa, 2006; Scalvenzi, 2012). Esta riqueza biológica representa una fuente potencial de nuevos compuestos bioactivos con aplicaciones en farmacología, agricultura y biotecnología ambiental.

El aislamiento e identificación de estos hongos suele realizarse mediante técnicas de cultivo en medios selectivos, complementadas con herramientas moleculares como la secuenciación del gen ITS del ADN ribosomal (Arnold & Lutzoni, 2007). Estas técnicas han

permitido descubrir no solo nuevas especies, sino también cepas con actividades antimicrobianas, antioxidantes y degradadoras de contaminantes (Kharwar et al., 2011).

En suma, la diversidad y características de los hongos endófitos en plantas medicinales no solo enriquecen el conocimiento sobre la microbiota vegetal, sino que también abren nuevas posibilidades para su aprovechamiento en procesos sostenibles, incluyendo la biorremediación de suelos contaminados y la producción de compuestos naturales de interés industrial (Bravo & Torres, 2021). En consecuencia, los hongos endófitos se posicionan como una alternativa ecológica para el desarrollo de tecnologías verdes, integrando saberes tradicionales y modernos (Verma et al., 2022).

### **1.6.3. Potencial de los hongos endófitos en biorremediación**

Los hongos endófitos son capaces de tolerar y transformar compuestos tóxicos presentes en suelos contaminados, incluyendo hidrocarburos, metales pesados y plaguicidas. Esta capacidad está asociada a la producción de enzimas oxidativas (lacasas, manganeso peroxidasas, lignina peroxidasas) que degradan contaminantes orgánicos persistentes.

Investigaciones como las de Harms et al. (2011) y Xu et al. (2010) demuestran que ciertas especies endofíticas pueden degradar plásticos, hidrocarburos y otras sustancias tóxicas, mientras se mantienen funcionales dentro del tejido vegetal. La simbiosis con la planta hospedera ofrece un entorno protector al hongo y, a su vez, permite a la planta mejorar su adaptación a ambientes contaminados.

En contextos extremos, como ambientes marinos o regiones polares, también se han estudiado hongos con capacidad de degradar hidrocarburos, lo cual amplía el espectro ecológico de estos microorganismos (Barnes et al., 2017; Ruberto et al., 2005).

#### **1.6.4. Plantas medicinales y los hongos endófitos**

Las plantas medicinales se han utilizado ancestralmente por diversas culturas gracias a sus propiedades terapéuticas, lo que ha promovido su estudio tanto desde una perspectiva tradicional como científica. Estas especies vegetales poseen una rica diversidad química que no solo les confiere efectos beneficiosos sobre la salud humana, sino que también condiciona el tipo de microorganismos endófitos que albergan.

Diversos estudios han evidenciado que los hongos endófitos presentes en estas plantas pueden desarrollar adaptaciones metabólicas únicas, favoreciendo su uso en procesos de biorremediación. Por ejemplo, Harms et al. (2011) identificaron cepas con enzimas oxidativas capaces de degradar compuestos tóxicos, mientras que Xu et al. (2010) documentaron la capacidad degradadora del género *Pestalotiopsis* sobre materiales plásticos. Saini et al. (2024) también destacan el uso de hongos endófitos en suelos contaminados por hidrocarburos señalando que la coexistencia prolongada con compuestos tóxicos puede inducir adaptaciones fisiológicas y metabólicas que mejoran su eficacia degradadora.

Scalvenzi (2012) demuestra que las especies utilizadas en la medicina tradicional ecuatoriana poseen comunidades endofíticas con capacidades biotecnológicas aún poco exploradas. Benavides López de Mesa (2006) señala que, en regiones tropicales como América del Sur, la diversidad de hongos endófitos en plantas medicinales es aún más amplia. El estudio de Chango Vasconez (2023) analiza hongos y bacterias endófitos de suelos contaminados en Ecuador, encontrando cepas tolerantes a metales y derivados de petróleo. Verma et al. (2022) destacan que las plantas medicinales actúan como reservorios de hongos adaptados a ambientes hostiles, con potencial uso en la agricultura y la biorremediación.

Schlenker (2023) y Delgado Fernández (2014) también han trabajado en la selección de cepas con alta eficiencia degradativa, contribuyendo al desarrollo de tecnologías limpias para el tratamiento de suelos contaminados.

Investigaciones como las de Kusari et al. (2012) y Strobel et al. (2004) utilizan técnicas de cultivo en medios selectivos y análisis molecular (secuenciación de ADN ribosomal) para identificar especies endofíticas. De forma similar, en este estudio se empleó el aislamiento en medios PDA y pruebas de tolerancia a contaminantes como estrategia de selección de cepas con potencial biorremediador.

A continuación, se presenta una tabla con las 12 plantas medicinales utilizadas en el presente estudio. En ella se incluyen sus nombres científicos, propiedades medicinales, usos ancestrales y posibles contraindicaciones. Esta elección no solo responde a un valor cultural y terapéutico tradicional, sino también al interés científico por su potencial como fuente de microorganismos endófitos adaptados a condiciones ambientales adversas, lo cual las convierte en candidatas ideales para estudios de biorremediación.

<b>Nombre común</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Propiedades medicinales</b>	<b>Usos ancestrales</b>	<b>Contraindicaciones</b>
<b>Hierba Luisa</b>	<i>Cymbopogon citratus</i>	Digestiva, sedante	Infusión para insomnio y nervios	No usar en embarazo
<b>Menta</b>	<i>Mentha × piperita</i>	Analgésica, digestiva	Dolores estomacales	Evitar en embarazadas y lactantes
<b>Hierba buena</b>	<i>Mentha spicata</i>	Antiinflamatoria, carminativa	Aliviar gases y cólicos	Altas dosis pueden ser irritantes
<b>Manzanilla</b>	<i>Matricaria chamomilla</i>	Calmante, antiespasmódica	Tratamiento de cólicos y dolores estomacales	Posible alergia en personas sensibles
<b>Hierba de Infante</b>	<i>Clinopodium brownei</i>	Descongestionante	Antiinflamatorio, y tratamiento de gripes	Sin evidencia clínica reportada

<b>Sangorache</b>	<i>Amaranthus quitensis</i>	Nutritiva, antioxidante	Dolores estomacales y cólicos menstruales	No documentada ampliamente
<b>Cedrón</b>	<i>Aloysia citrodora</i>	Antibacteriana, sedante	Dolor de cabeza y relajante	Evitar en embarazo
<b>Llantén</b>	<i>Plantago major</i>	Cicatrizante, antiinflamatoria	Cicatrización de heridas y antiinflamatorio	Evitar en embarazo
<b>Romero</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Estimulante, digestiva	Estimular la memoria	No en embarazo ni epilepsia
<b>Ruda</b>	<i>Ruta graveolens</i>	Antiinflamatoria, emenagoga	Regulación menstrual y limpias de mal aire	Abortiva en altas dosis
<b>Malva</b>	<i>Malva sylvestris</i>	Emoliente, laxante	Irritaciones cutáneas	Evitar en embarazo
<b>Malva Morada</b>	<i>Lavatera arborea</i>	Antiinflamatoria, expectorante	Dolores respiratorios	Evitar uso prolongado

Tabla 1. Plantas medicinales seleccionadas para el aislamiento de hongos endófitos.

Esta tabla no solo documenta las características medicinales y culturales de las plantas seleccionadas, sino que también permite reconocer su potencial biotecnológico como reservorio de microorganismos endófitos.

Asimismo, se ha elaborado un anexo fotográfico que incluye imágenes individuales de cada una de las 12 plantas utilizadas en el estudio, el cual puede consultarse en el Anexo1 para complementar visualmente la identificación de las especies empleadas.

Desde una perspectiva científica, estas especies contienen metabolitos secundarios como aceites esenciales, flavonoides, alcaloides y taninos que podrían influir en la composición y funcionalidad de sus comunidades endofíticas (Ríos & Recio, 2005; Valderrama et al., 2020). La investigación sobre sus endófitos no solo tiene valor etnobotánico (relación entre las plantas y la cultura local), sino también potencial biotecnológico al considerar que estas plantas podrían albergar microorganismos adaptados a condiciones ambientales complejas, útiles en procesos de biorremediación (Córdova et al., 2021).

En conjunto, la literatura revisada permite establecer un marco conceptual sólido para el presente estudio, sustentando la selección de hongos endófitos provenientes de plantas medicinales como una estrategia viable y prometedora para abordar problemas de contaminación ambiental mediante procesos de biorremediación ecológicamente sostenibles.

De esta forma, la presente sección integra los aportes teóricos, metodológicos y empíricos disponibles en la literatura científica, que respaldan el uso de plantas medicinales como fuente estratégica en el aislamiento de hongos endófitos con aplicaciones potenciales en biorremediación ambiental.

### **1.6.5. Estado del arte**

La revisión del estado del arte nos permitió contextualizar el presente estudio dentro del marco de investigaciones previas, evidenciando los aportes teóricos, metodológicos y empíricos más relevantes. En primer lugar, Haritash y Kaushik (2009) y Vidali (2001) abordan el problema de la contaminación ambiental desde una perspectiva teórica, explicando la toxicidad y persistencia de los hidrocarburos en el ambiente, así como los principios generales de la biorremediación. A nivel metodológico, Ruberto et al. (2005) evaluaron experimentalmente técnicas de bioaumentación y bioestimulación en suelos contaminados, proporcionando evidencia empírica sobre la eficacia de la biorremediación.

Por otro lado, Harms, Schlosser y Wick (2011) identifican el rol de los hongos ligninolíticos como agentes degradadores de compuestos tóxicos, estableciendo fundamentos bioquímicos sólidos. En cuanto a los hongos endófitos, Strobel y Daisy (2003) fueron pioneros en introducir su potencial biotecnológico, mientras que Xu, Ebada y Proksch (2010) documentaron la actividad degradadora de metabolitos en cepas del género *Pestalotiopsis*. Estas contribuciones han sido ampliadas por estudios más recientes como los de Scalvenzi

(2012), quien analizó comunidades endofíticas ecuatorianas, y Verma et al. (2022), quienes demostraron la adaptación de hongos en plantas medicinales a ambientes contaminados.

En el contexto ecuatoriano, investigaciones como la de Chango Vasconez (2023) ofrecen datos empíricos sobre cepas microbianas tolerantes a hidrocarburos, lo cual aporta evidencia local para la validación del enfoque de este trabajo. Finalmente, Saini et al. (2024) ofrecen una revisión actualizada y comprensiva sobre el uso de hongos endófitos en la remediación de suelos, sintetizando tanto los aspectos teóricos como metodológicos más relevantes. A continuación, se presenta una tabla resumen con los principales estudios revisados:

<b>Autor/a</b>	<b>Año</b>	<b>Aporte principal</b>
<b>Haritash &amp; Kaushik</b>	2009	Describen la toxicidad y persistencia de los hidrocarburos en el ambiente.
<b>Vidali</b>	2001	Expone principios y ventajas de la biorremediación frente a métodos tradicionales.
<b>Ruberto et al.</b>	2005	Evalúan la efectividad de la bioaumentación y bioestimulación en suelos contaminados.
<b>Harms, Schlosser &amp; Wick</b>	2011	Identifican hongos ligninolíticos como degradadores de compuestos tóxicos.
<b>Strobel &amp; Daisy</b>	2003	Introducen el concepto de potencial biotecnológico de hongos endófitos.
<b>Xu, Ebada &amp; Proksch</b>	2010	Documentan metabolitos activos en <i>Pestalotiopsis</i> con capacidad degradadora.

<b>Scalvenzi</b>	2012	Estudia hongos endófitos de plantas medicinales ecuatorianas con capacidad enzimática.
<b>Verma et al.</b>	2022	Relacionan endófitos en plantas medicinales con resistencia a contaminantes.
<b>Chango Vasconez</b>	2023	Evalúa cepas microbianas ecuatorianas en ambientes con hidrocarburos.
<b>Saini et al.</b>	2024	Revisión sobre el uso de hongos endófitos en la remediación de suelos.

Tabla 2. Estado del arte del estudio del problema.

## **2. Materiales y Métodos**

### **2.1. Diseño**

El presente estudio se desarrolló con un enfoque cualitativo, experimental, orientado a identificar hongos endófitos presentes en plantas medicinales y evaluar preliminarmente su capacidad de tolerancia a hidrocarburos. El proceso contempló la recolección de muestras vegetales, el aislamiento de los microorganismos mediante siembra en medio de cultivo, la obtención de cultivos puros, su caracterización morfológica macroscópica y microscópica, y la evaluación de su crecimiento en presencia un hidrocarburo. Todas las etapas se ejecutaron en condiciones asépticas y bajo protocolos de bioseguridad, con el fin de garantizar la validez de los resultados y la trazabilidad de los procedimientos.

### **2.2. Población y muestra**

La población de este estudio comprende, por un lado, plantas medicinales tradicionales del sur del Ecuador y, por otro, los hongos endófitos presentes en dichas plantas.

Se utilizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, seleccionando doce especies de uso medicinal frecuente y de fácil acceso, priorizando aquellas reconocidas por su valor terapéutico en saberes ancestrales. La elección se basó en criterios como frescura, diversidad morfológica, estado sanitario y frecuencia de uso tradicional, y se complementó con información etnobotánica obtenida mediante entrevistas informales a comerciantes y personas con conocimiento, quienes compartieron sus conocimientos sobre las propiedades y aplicaciones de cada planta. Las características de cada especie se detallan en la Tabla 1. Entre las especies incluidas se encuentran hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), menta (*Mentha × piperita*), manzanilla (*Matricaria chamomilla*), cedrón (*Aloysia citrodora*), ruda (*Ruta graveolens*), romero (*Rosmarinus officinalis*), entre otras, previamente descritas en el apartado 1.6.4.

De cada planta seleccionada se tomaron fragmentos de hojas o flores, según la estructura predominante. Las muestras fueron rotuladas, empacadas en fundas estériles tipo Ziploc y trasladadas al laboratorio. Las imágenes correspondientes se presentan en el Anexo 1, Figuras 8 a 19. Allí se ejecutó la esterilización superficial de los fragmentos, con el fin de eliminar microorganismos epífitos y asegurar que el cultivo reflejara exclusivamente la microbiota interna.

A partir de estas muestras se obtuvo la población microbiana de interés: hongos endófitos, es decir, microorganismos fúngicos que habitan de manera asintomática en los tejidos internos de las plantas. El procedimiento puede observarse en la Figura 21. Cada fragmento vegetal fue sembrado en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) en condiciones asépticas. Tras la incubación, se observaron colonias fúngicas que constituyeron la muestra objeto de análisis, de la cual se seleccionaron cepas puras para su caracterización y pruebas de tolerancia a hidrocarburos.

Finalmente, se realizó una caracterización morfológica microscópica de las cepas aisladas, mediante la preparación de una lámina con una pequeña porción del micelio tomada con un asa de platino, teñida con azul de metileno y observada al microscopio óptico. Este procedimiento permitió identificar características como la morfología de las hifas, la presencia de septos y estructuras reproductivas, que orientan una identificación preliminar de los hongos endófitos presentes. Posteriormente, estas mismas cepas fueron utilizadas en ensayos de crecimiento en presencia de un hidrocarburo con el propósito de evaluar su tolerancia y determinar su potencial uso en procesos de biorremediación.

### **2.3. Consideraciones éticas**

El estudio se desarrolló siguiendo principios éticos de respeto, responsabilidad y transparencia. La recolección de las muestras vegetales se llevó a cabo sin afectar poblaciones silvestres ni ecosistemas sensibles. La adquisición de las especies se efectuó en un entorno comercial regulado, mediante la compra directa a productores y comerciantes locales. La información etnobotánica proporcionada por los vendedores fue utilizada únicamente con fines académicos. Las manipulaciones microbiológicas se llevaron a cabo bajo normas de bioseguridad establecidas para el manejo de microorganismos y residuos biológicos, minimizando riesgos para el personal, la comunidad y el ambiente. No se emplearon organismos modificados genéticamente ni se realizaron ensayos in vivo en animales o seres humanos. El estudio fue de carácter exploratorio y con fines académicos, sin implicaciones comerciales.

### **2.4. Procedimiento experimental**

El procedimiento experimental se organizó en varias etapas que permitieron aislar hongos endófitos de plantas medicinales y evaluar de forma preliminar su tolerancia a hidrocarburos.

### **Etapa 1: Recolección de muestras vegetales**

De cada una se tomaron fragmentos sanos de hojas o flores, que fueron etiquetados y colocados en fundas Ziploc limpias para su traslado al laboratorio en condiciones ambientales. Registro fotográfico en el Anexo1, Figura 1 a la 12.

### **Etapa 2: Preparación del medio de cultivo**

Para el aislamiento de los hongos, se preparó medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Se pesaron 13,44 g de polvo comercial y se mezclaron con 420 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer. La mezcla se calentó con agitación constante hasta su disolución completa. Posteriormente, se esterilizó en autoclave a 120 °C durante 15 minutos. Una vez esterilizado, el medio se vertió en cajas Petri de 9 cm de diámetro bajo condiciones asépticas dentro de la cabina de flujo laminar y se dejó solidificar. Ver figura 13.

### **Etapa 3: Aislamiento de hongos endófitos**

Bajo condiciones asépticas, los fragmentos de tejido vegetal fueron lavados con agua corriente con el objetivo de remover residuos superficiales. Posteriormente, se procedió a su desinfección mediante una inmersión en etanol al 95% durante aproximadamente un minuto, seguida de un tratamiento con hipoclorito de sodio al 3% por un periodo de tres minutos. Concluida esta etapa, se realizaron tres enjuagues consecutivos con agua destilada estéril y los fragmentos se dejaron secar sobre papel filtro estéril. Cada uno se sembró en el medio de cultivo PDA previamente preparado, identificando las cajas con el nombre de la planta y la fecha correspondiente. Las placas se incubaron a 28 °C durante algunos días, revisando periódicamente la aparición de colonias fúngicas. Aquellas colonias que presentaron características distintas fueron transferidas a nuevas cajas con PDA fresco para obtener cultivos puros. La documentación fotográfica de este proceso se muestra en la Figura 14 y 15.

#### **Etapa 4: Caracterización morfológica**

Se desarrolló una descripción macroscópica de las colonias, considerando aspectos como color, textura, forma y rapidez de crecimiento. Además, se aplicó una observación microscópica sencilla, preparando placas con una gota de azul de metileno y una pequeña porción de micelio. Ver figura 16. Estas observaciones permitieron identificar rasgos básicos de desarrollo y estructuras reproductivas, como la forma y el tamaño de los conidios, las fiálides, el tipo de conidiogénesis, así como la forma y el diámetro de las hifas, útiles para una clasificación preliminar.

Para complementar esta descripción, se elaboró un registro fotográfico que documenta tanto los aspectos macroscópicos como microscópicos de las colonias fúngicas obtenidas. Dichas imágenes pueden consultarse en el Anexo 3, Tabla 4 hasta la Tabla 9, que contiene la secuencia visual correspondiente.

#### **Etapa 5: Pruebas de tolerancia de aislados fúngicos frente a hidrocarburos**

Para conocer si los hongos podían tolerar la presencia de hidrocarburos, se diseñó un ensayo en el que se colocó una gota de hidrocarburo a 2,5 cm del borde de la caja Petri. En el extremo opuesto se inoculó un fragmento del cultivo puro. Como control, se prepararon placas sin hidrocarburo que permitieron comparar el comportamiento de las cepas.

Durante el periodo de incubación se ejecutaron observaciones periódicas, registrando el crecimiento micelial, cambios de coloración y cualquier evidencia de interacción con el contaminante. La evidencia fotográfica se puede encontrar en Anexo 4, Figura 17.

Finalmente, durante todo el ensayo se midió el diámetro del crecimiento del micelio con una regla estéril, registrando diariamente los valores en tablas que se presentan en los resultados.

Para cuantificar la inhibición relativa del crecimiento micelial, se calculó el porcentaje de inhibición utilizando la fórmula descrita por Van Den Heuvel (Fokkema, 1973):

$$\% \text{ Inhibición} = 100 \times \frac{(D_c - D_t)}{D_c}$$

Donde  $D_c$  corresponde al diámetro promedio de la colonia en el control sin hidrocarburo, y  $D_t$  al diámetro promedio en presencia del hidrocarburo. Este cálculo permitió expresar cuantitativamente la reducción del crecimiento micelial atribuida al contaminante.

## 2.5. Variables del estudio

En esta investigación se consideraron las siguientes variables:

- **Variable independiente:** La exposición de las cepas de hongos endófitos a un hidrocarburo modelo.
- **Variable dependiente:** La respuesta de crecimiento micelial de los hongos endófitos, evaluada mediante la observación cualitativa de la expansión del micelio, la formación de pigmentos y exudados en el medio de cultivo.
- **Variables controladas:** Las condiciones de incubación (temperatura de 28 °C, tiempo de exposición), el tipo de medio de cultivo (Papa Dextrosa Agar), la técnica de siembra en condiciones asépticas y el volumen de hidrocarburo aplicado.

Estas variables fueron seleccionadas para establecer criterios comparativos entre las cepas analizadas y valorar de manera preliminar su capacidad de tolerancia al contaminante.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Recogida de datos

La toma de datos inició con la selección y adquisición de 12 especies de plantas medicinales, dando prioridad a especies vegetales reconocidas en el medio por su uso

tradicional y disponibilidad. De cada especie se tomaron fragmentos de hojas o flores, que fueron rotulados, almacenados en fundas estériles y trasladados al laboratorio.

En condiciones asépticas, los fragmentos se sometieron a un proceso de esterilización superficial y posterior siembra en cajas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Las cajas fueron incubadas a 28 °C, y se ejecutó un monitoreo periódico para identificar la aparición de colonias fúngicas.

Una vez que se pudo ver el desarrollo de micelios de hongos endófitos, se procedió a aislar y formar cultivos puros. Finalmente, se caracterizaron morfológicamente mediante observación macroscópica y microscópica, y se realizaron ensayos de exposición al hidrocarburo para evaluar la respuesta de crecimiento en condiciones contaminantes.

### **3.2. Análisis de los datos**

El análisis de los resultados se fundamentó en la evaluación cualitativa y cuantitativa del crecimiento fúngico en medios de cultivo suplementados con una gota de hidrocarburo, empleado como hidrocarburo modelo. Para ello, se compararon las cajas Petri con presencia de contaminante frente a las cajas testigo o de control (sin hidrocarburo), con el objetivo de identificar diferencias en la capacidad de desarrollo de las cepas aisladas.

Se registró visualmente la presencia y densidad del micelio, la coloración del medio y cualquier signo de modificación visible del aceite, como variaciones de opacidad o aclaramiento. A fin de organizar la información, las cepas fueron clasificadas en cuatro categorías según su respuesta al hidrocarburo:

- **Alta tolerancia:** crecimiento evidente comparable al testigo, sin inhibición visible.
- **Tolerancia moderada:** crecimiento parcial o reducido respecto al testigo.
- **Baja tolerancia:** crecimiento claramente limitado frente al testigo.

- **Crecimiento estimulado:** crecimiento superior al testigo en presencia del hidrocarburo.

Para determinar estas categorías de forma cuantitativa, se aplicó el siguiente criterio: porcentajes de inhibición iguales o inferiores al 20% se consideraron como alta tolerancia; entre 21% y 60% como tolerancia moderada; superiores al 60% como baja tolerancia; y valores negativos se interpretaron como crecimiento estimulado frente al contaminante. Este criterio permitió clasificar de manera objetiva la respuesta de cada cepa.

Las observaciones se documentaron mediante registros fotográficos y se consignaron en tablas descriptivas, con la finalidad de facilitar la comparación entre tratamientos y servir de sustento al análisis posterior. Asimismo, se incluyó el seguimiento de aspectos morfológicos de las colonias y su evolución temporal como parte del criterio integral de evaluación.

Además del análisis cualitativo, se registraron mediciones diarias del diámetro del crecimiento micelial en milímetros, tanto en condiciones control como en presencia de hidrocarburo. Este registro permitió observar el progreso del crecimiento en el tiempo y cuantificar la tolerancia de las cepas, complementando las observaciones visuales. Los datos se organizaron en tablas comparativas que detallan el comportamiento de cada cepa a lo largo del periodo de incubación.

Para expresar de forma cuantitativa la inhibición relativa del crecimiento micelial, se utilizó el porcentaje de inhibición calculado según la fórmula descrita previamente en el apartado 2.4 (Etapa 5). Este valor permitió estimar la reducción atribuida al contaminante y facilitar la clasificación final de las cepas.

### **3.3. Presentación de los datos**

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el ensayo de crecimiento micelial de los hongos endófitos aislados de las diferentes especies vegetales, tanto en medios

de control como en medios contaminados con hidrocarburo. Los datos se organizaron por especie hospedante, incluyendo una descripción general de las características observadas y el resumen cuantitativo de las mediciones finales.

Cada cepa fue evaluada mediante el registro del diámetro de crecimiento micelial y la clasificación del nivel de tolerancia al hidrocarburo, de acuerdo con el porcentaje de inhibición calculado.

La Tabla 10 muestra el diámetro final alcanzado por las colonias en ambas condiciones y el porcentaje de inhibición estimado. Este análisis permitió identificar cepas con alta tolerancia e incluso casos de crecimiento estimulado frente al contaminante.

Las evidencias fotográficas de las pruebas de tolerancia se presentan en el Anexo 4.1, Evidencia fotográfica Figura 18 hasta la Figura 24; donde se incluyen imágenes comparativas de cada cepa en medios control y contaminado.

<b>Planta</b>	<b>Cepa</b>	<b>Diámetro Control (cm)</b>	<b>Diámetro Hidrocarburo (cm)</b>	<b>% Inhibición</b>	<b>Clasificación</b>
<b>Cedrón</b>	F1	6.5	7.0	-7.7	Crecimiento estimulado
	F2	9.0	9.0	0.0	Alta tolerancia
	F3	9.0	9.0	0.0	Alta tolerancia
	F4	9.0	9.0	0.0	Alta tolerancia
	F5	2.3	2.3	0.0	Alta tolerancia
	F6	9.0	9.0	0.0	Alta tolerancia
<b>Ruda</b>	F1	8.5	6.5	23.5	Moderada tolerancia
<b>Hierba Buena</b>	F1	8.5	8.0	5.9	Alta tolerancia
	F2	4.3	5.0	-16.3	Crecimiento estimulado
	F4	1.2	2.3	-91.7	Crecimiento estimulado
	F5	5.5	4.4	20.0	Alta tolerancia

<b>Hierba Luisa</b>	F1	2.0	9.0	-350.0	Crecimiento estimulado
	F2	8.5	7.5	11.8	Alta tolerancia
	F3	7.0	8.5	-21.4	Crecimiento estimulado
<b>Malva</b>	F1	6.0	5.8	3.3	Alta tolerancia
	F2	1.8	3.6	-100.0	Crecimiento estimulado
	F3	2.3	2.6	-13.0	Crecimiento estimulado
<b>Infante</b>	F1	3.5	4.4	-25.7	Crecimiento estimulado
	F2	6.5	6.0	7.7	Alta tolerancia
	F3	7.0	6.5	7.1	Alta tolerancia

*Tabla 3. Diámetro final y porcentaje de inhibición de las pruebas de tolerancia de aislados fúngicos frente a hidrocarburos.*

En conjunto, los resultados obtenidos reflejan la diversidad de respuestas de los hongos endófitos frente al hidrocarburo modelo, con casos de alta tolerancia, crecimiento estimulado y tolerancia moderada según la especie hospedante y la cepa. Estos hallazgos se analizan en detalle en el apartado siguiente, considerando su relación con estudios previos y su potencial aplicabilidad en procesos de biorremediación.

### **3.4. Discusión**

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad de crecimiento y la tolerancia de hongos endófitos aislados de seis especies de plantas medicinales frente a un hidrocarburo modelo, con el propósito de identificar cepas con potencial aplicación en procesos de biorremediación. Los resultados obtenidos demostraron una variabilidad considerable en la respuesta de las cepas, evidenciándose casos de alta tolerancia y de crecimiento estimulado en presencia del contaminante.

En términos generales, la mayoría de las cepas presentaron porcentajes de inhibición iguales o inferiores al 20%, lo que indica una alta tolerancia al hidrocarburo. Destacan

particularmente los aislamientos de Cedrón, Malva y Hierba Luisa, donde varias cepas mantuvieron un crecimiento similar o incluso superior al testigo. Este comportamiento podría estar asociado a la capacidad de ciertos hongos endófitos de metabolizar compuestos hidrocarbonados como fuente alternativa de carbono, tal como se ha descrito en estudios previos (Díaz-Ramírez et al., 2019; Harms et al., 2011).

La observación de cepas con crecimiento estimulado es consistente con investigaciones que reportan adaptaciones fisiológicas de hongos endófitos frente a contaminantes orgánicos, incluyendo la producción de enzimas oxidativas y metabolitos secundarios que facilitan la degradación parcial de los hidrocarburos (Gómez-Ramírez et al., 2020). Asimismo, resultados similares se describen en el estudio de hongos endófitos presentes en Chuquirahua y Ñachag, donde se evidenció la capacidad de algunas cepas de tolerar y transformar compuestos tóxicos (Hidalgo et al., 2022).

Por otro lado, se registraron algunas cepas con niveles moderados de inhibición, especialmente en especies como Ruda y Hierba Buena, lo que sugiere diferencias intrínsecas en la adaptación metabólica y la tolerancia fúngica. Estos hallazgos resaltan la importancia de considerar el origen vegetal y la variabilidad intraespecífica al seleccionar cepas para aplicaciones biotecnológicas (Ríos et al., 2018).

Es importante destacar que este estudio se realizó bajo condiciones controladas *in vitro*, por lo que los resultados constituyen una aproximación preliminar. Se recomienda efectuar análisis moleculares de identificación taxonómica, así como ensayos adicionales en condiciones ambientales simuladas, para confirmar la capacidad real de tolerancia y degradación de hidrocarburos.

En conjunto, los resultados obtenidos aportan información relevante sobre el comportamiento de hongos endófitos frente a contaminantes orgánicos y constituyen una base para futuras investigaciones orientadas al desarrollo de estrategias sostenibles de biorremediación.

Cabe recordar que la clasificación de tolerancia se fundamentó en los rangos de porcentaje de inhibición previamente descritos en el apartado 3.2, lo que permitió estandarizar la interpretación de los resultados.

## **4. Conclusiones y Recomendaciones**

### **4.1. Conclusiones**

1. Las plantas medicinales estudiadas son una fuente importante de hongos endófitos con diversidad morfológica y respuestas variadas frente a la exposición a hidrocarburos, lo que respalda su potencial para aplicaciones biotecnológicas en biorremediación.
2. Entre las especies evaluadas, los aislamientos procedentes de Cedrón (*Aloysia citrodora*) y Malva (*Malva sylvestris*) destacaron por mantener un crecimiento micelial constante en presencia de hidrocarburo, presentando porcentajes de inhibición bajos o incluso negativos.
3. Por el contrario, la cepa aislada de Ruda (*Ruta graveolens*) mostró un crecimiento más limitado y una reducción moderada de la expansión micelial, lo que evidencia que la tolerancia no es uniforme y depende de factores específicos de cada cepa y del hospedero vegetal.
4. La clasificación basada en el porcentaje de inhibición permitió diferenciar la respuesta de cada aislamiento de forma objetiva y sencilla, constituyéndose en un criterio útil para la selección preliminar de cepas con interés biotecnológico.

5. Estos resultados confirman que los hongos endófitos nativos tienen un potencial relevante como alternativa ecológica y de bajo costo para contribuir a la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos.

#### **4.2. Recomendaciones**

1. Realizar estudios complementarios que incluyan la identificación molecular de las cepas, con el fin de precisar su clasificación taxonómica y relacionarla con su capacidad de tolerancia al contaminante.
2. Desarrollar ensayos adicionales en condiciones de campo o en sistemas controlados que simulen ambientes contaminados, para verificar la efectividad de los hongos endófitos en procesos de biorremediación.
3. Analizar la producción de metabolitos secundarios y enzimas implicadas en la degradación de hidrocarburos, para comprender mejor los mecanismos fisiológicos que intervienen.
4. Promover la conservación de la biodiversidad microbiana asociada a plantas medicinales locales, valorando su importancia ecológica y su posible aprovechamiento en tecnologías ambientales sostenibles.
5. Fomentar la vinculación de estos hallazgos con proyectos académicos y comunitarios orientados a la recuperación de zonas afectadas por actividades extractivas o derrames de hidrocarburos, promoviendo la transferencia de conocimientos y el uso de soluciones de bajo costo.

#### **5. Bibliografía**

- Acosta, L. (2016). Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía. *Revista Abya-Yala*.
- Arcos, A. (2019). Uso ancestral y propiedades terapéuticas de plantas medicinales en la Sierra ecuatoriana. *Ciencias de la Vida*, 18(1), 55–63.

- Arnold, A. E., & Lutzoni, F. (2007). Diversity and host range of foliar fungal endophytes: Are tropical leaves biodiversity hotspots? . *Ecology*, 88(3), 541-549.
- Arnold, A. E., Mejia, L. C., Kyllo, D., & Rojas, E. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. . *National Academy of Sciences*, 100(26), 15649-15654.
- Ballesta, S. (2017). Estrategias de biorremediación para la descontaminación de suelos: bioestimulación, bioaumentación y fitorremediación. *Revista de Ciencias Ambientales*, 51(2), 45-58.
- Barnes , N., Vishwas, K., Lotlikar, N., Meena, R., & Damare, S. (2017). Bioremediation potential of fungi utilizing hydrocarbons from marine niches in India. *3 Biotech*, 7(1), 1–13. doi:<https://doi.org/10.1007/s13205-016-0585-3>
- Benavides López de Mesa, E. (2006). Hongos endófitos de plantas tropicales: diversidad, función ecológica y potencial biotecnológico. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 8(1), 20-29.
- Bravo, K., & Torres, J. (2021). Actividad antimicrobiana de especies vegetales nativas del Ecuador. *Revista Latinoamericana de Plantas Medicinales*, 10(2), 78–89.
- Castillo, L. (2022). Composición química y usos etnobotánicos del sangorache (*Amaranthus quitensis*). *Boletín de Etnobotánica*, 13(1), 33–45.
- Chango Vasconez, D. J. (2023). *Evaluación de cepas microbianas tolerantes a hidrocarburos en suelos contaminados de Ecuador*. Universidad Central del Ecuador.
- Delgado Fernández, E. (2014). *Selección de cepas fúngicas con capacidad de biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

- Frisvad, J. C., Smedsgaard, J., Samson, R. A., Larsen, T. O., & Thrane, U. (2006). Fumonisin and aflatoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus*. *Mycotoxin Research*, 22(1), 15-23.
- Gadd, G. M. (2010). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*, 156(3), 609-643. doi:<https://doi.org/10.1099/mic.0.037143-0>
- Gómez, D. (2020). Aplicaciones farmacológicas de la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.). *Revista Fitoterapia y Salud*, 22(3), 112–119.
- Haritash, A. K., & Kaushik, C. P. (2009). Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 1-15. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137>
- Harms, H., Schlosser, D., & Wick, L. (2011). Untapped potential: Exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. *Nature Reviews Microbiology*, 9(3), 177–192. doi:<https://doi.org/10.1038/nrmicro2519>
- Kharwar, R. N., Mishra, A., Gond, S. K., Stierle, A., & Stierle, D. (2011). Anticancer compounds derived from fungal endophytes: Their importance and future challenges. *Natural Product Reports*, 28(7), 1208-1228.
- Kusari, S., Hertweck, C., & Spiteller, M. (2012). Chemical ecology of endophytic fungi: Origins of secondary metabolites. *Chemistry & Biology*, 19(7), 792-798.
- Maharachchikumbura, S. S. (2011). Towards a natural classification and backbone tree for Sordariomycetes. *Fungal Diversity*, 51(1), 93-131. doi:<https://doi.org/10.1007/s13225-011-0164-3>
- Ministerio del Ambiente. (2019). *Informe de calidad ambiental del Ecuador 2019*. Obtenido de <https://ambiente.gob.ec>

Ministerio del Ambiente y Transición Ecológica. (2023). *Plan Nacional de Remediación de Pasivos Ambientales*. Obtenido de <https://ambiente.gob.ec>

Organización Mundial de la Salud. (2025). *Informe mundial sobre salud ambiental*. Obtenido de <https://www.who.int/es>

Petrini, O. (1991). Fungal endophytes of tree leaves. En J. H. Andrews, & S. S. Hirano, *Microbial ecology of leaves* (págs. 179-197). Springer.  
doi:[https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3168-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3168-4_9)

Pitt, J. I., & Miller, J. D. (2017). Aflatoxins . En *Fungi and food spoilage* (págs. 307-323). Springer. doi:[https://doi.org/10.1007/978-3-319-40627-5\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-319-40627-5_17)

Ramírez, P., & Vinueza, E. (2018). Revisión de plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. *Revista Ecuatoriana de Ciencia y Salud*, 5(2), 90–101.

Ríos, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 80–84. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025>

Rodriguez, R. J., White, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: Diversity and functional roles. . *New Phytologist*, 182(2), 314–330.  
doi:<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>

Ruberto , L., Vazquez, S. C., & Mac Cormack, W. P. (2005). Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and bioaugmentation on the bioremediation of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 55(4), 275-281. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.12.002>

Saini , R., Sharma, V., & Yadav, A. N. (2024). Mycoremediation: Fungi-based approach for bioremediation of environmental pollutants. En A. N. Yadav, *Fungi in Sustainable*

*Agriculture and Environment* (págs. 233-256). Springer.

doi:<https://doi.org/10.1007/978>

Salazar, V., & Palacios, R. (2023). Evaluación fitoquímica y potencial terapéutico del llantén (Plantago major). *Revista Andina de Ciencias Naturales*, 11(1), 44–58.

Scalvenzi, L. (2012). Biotransformaciones por hongos endófitos aislados de plantas medicinales tradicionales ecuatorianas: conectando la etnomedicina con la biotecnología. *Revista Amazónica. Ciencia y Tecnología*, 1(3), 248-270.

doi:<https://doi.org/10.59410/RA>

Schlenker, M. (2023). Biodegradación fúngica de hidrocarburos en suelos contaminados: evaluación de cepas endofíticas nativas. *Boletín de Investigación Microbiana Aplicada*, 12(2), 112-125.

Schulz, B., & Boyle, C. (2005). The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109(6), 661–686. doi:<https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>

Schulz, B., Wanke, U., Draeger, S., & Aust, H. J. (2002). Endophytes from herbaceous plants and shrubs: Effectiveness of surface sterilization methods. *Mycological Research*, 102(12), 1447-1454.

Stone, J. K., Bacon, C. W., & White, J. F. (2000). An overview of endophytic microbes: Endophytism. (C. W. Bacon, Ed.) *Microbial endophytes*, 3-29.

Strobel, G., & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 491-502.

doi:<https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.491-502.2003>

Tian, X., Zhang, Z., Yang, H., & Chen, Y. (2019). Biodegradation of petroleum hydrocarbons by *Aspergillus* species isolated from contaminated soil . *Polish Journal*

*of Environmental Studies*, 28(3), 1665–1673.

doi:<https://doi.org/10.15244/pjoes/90711>

Verma, A., Shameem, N., Jatav, H. S., Sathyanarayana, E., Parray, J. A., Poczai, P., & Sayyed, R. Z. (2022). Fungal endophytes to combat biotic and abiotic stresses for climate-smart and sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 13, 953836. doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.953836>

Vidali, M. (2001). Bioremediation. An overview. . *Pure and Applied Chemistry*, 73(7), 1163–1172. doi:<https://doi.org/10.1351/pac200173071163>

Villacrés, E., & Gualinga, M. (2021). Estudio comparativo de las propiedades antiinflamatorias del cedrón (*Aloysia triphylla*) y el romero (*Rosmarinus officinalis*). *Investigaciones Botánicas*, 9(2), 85–96.

Xu, J., Ebada, S. S., & Proksch, P. (2010). Pestalotiopsis: A highly creative genus – chemistry and bioactivity of secondary metabolites. *Fungal Diversity*, 44(1), 15-31. doi:<https://doi.org/10.1007/s13225-010-0050-2>

Yuan, S., Guo, L., Li, J., & Li, Y. (2017). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungal endophytes isolated from plants. *Journal of Environmental Management*, 203, 294–301. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.07.066>

Zhao, J., Shan, T., Mou, Y., & Zhou, L. (2010). Plant-derived bioactive compounds produced by endophytic fungi. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 10(8), 963-978.

## 6. Apéndice/Anexos

A continuación se presentan los anexos correspondientes al presente estudio. Estos materiales complementarios contienen la información detallada que respalda los resultados expuestos en los capítulos anteriores, incluyendo el registro diario de las mediciones de crecimiento micelial, las evidencias fotográficas de las colonias en medios de control y contaminado, y la descripción morfológica de los aislamientos.

La información contenida en los anexos constituye un insumo adicional para la interpretación de los datos y la validación del procedimiento experimental desarrollado.

### Anexo 1. Fotografías de plantas medicinales elegidas

En este anexo se presentan imágenes individuales de las plantas medicinales seleccionadas para el aislamiento de hongos endófitos.

Cada fotografía incluye la denominación común y el nombre científico correspondiente, lo que permite una correcta identificación botánica de las muestras utilizadas en el estudio.

#### Hierba Luisa – *Cymbopogon citratus*



Figura 1. Planta medicinal: Hierba Luisa - *Cymbopogon citratus*..

**Menta - *Mentha × piperita***

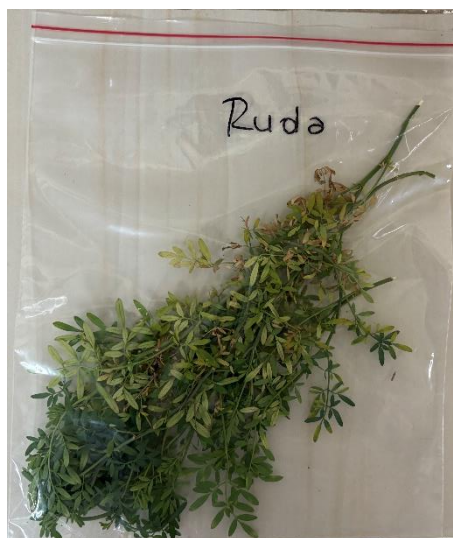
*Figura 2. Planta medicinal: Menta - *Mentha × piperita*. Elaboración propia.*

**Cedrón - *Aloysia citrodora***

*Figura 3. Planta medicinal: Cedrón - *Aloysia citrodora*. Elaboración propia.*

**Llantén - Plantago major**

*Figura 4. Planta medicinal: Llantén - Plantago major. Elaboración propia.*

**Ruda - Ruta graveolens**

*Figura 5. Planta medicinal: Ruda - Ruta graveolens. Elaboración propia.*

**Sangorache - *Amaranthus quitensis***



*Figura 6. Planta medicinal: Sangorache - Amaranthus quitensis. Elaboración propia.*

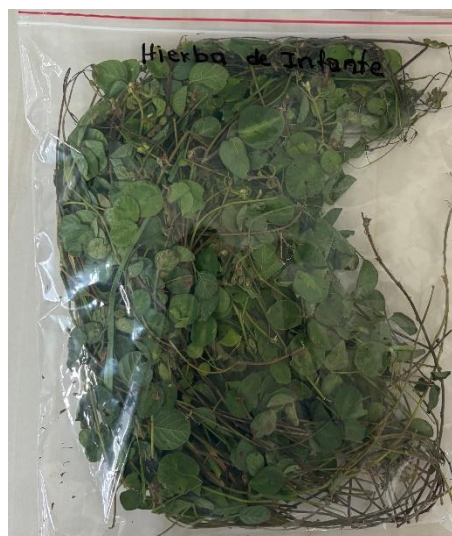
**Manzanilla - *Matricaria chamomilla***



*Figura 7. Planta medicinal: Manzanilla - Matricaria chamomilla. Elaboración propia.*

**Romero - Rosmarinus officinalis**

*Figura 8. Planta medicinal: Romero - Rosmarinus officinalis. Elaboración propia.*

**Hierba de infante - Clinopodium brownie**

*Figura 9. Planta medicinal: Hierba de infante - Clinopodium brownie. Elaboración propia.*

**Malva - *Malva sylvestris***

*Figura 10. Planta medicinal: Malva - Malva sylvestris. Elaboración propia.*

**Malva Morada - *Lavatera arborea***

*Figura 11. Planta medicinal: Malva Morada - Lavatera arborea. Elaboración propia.*

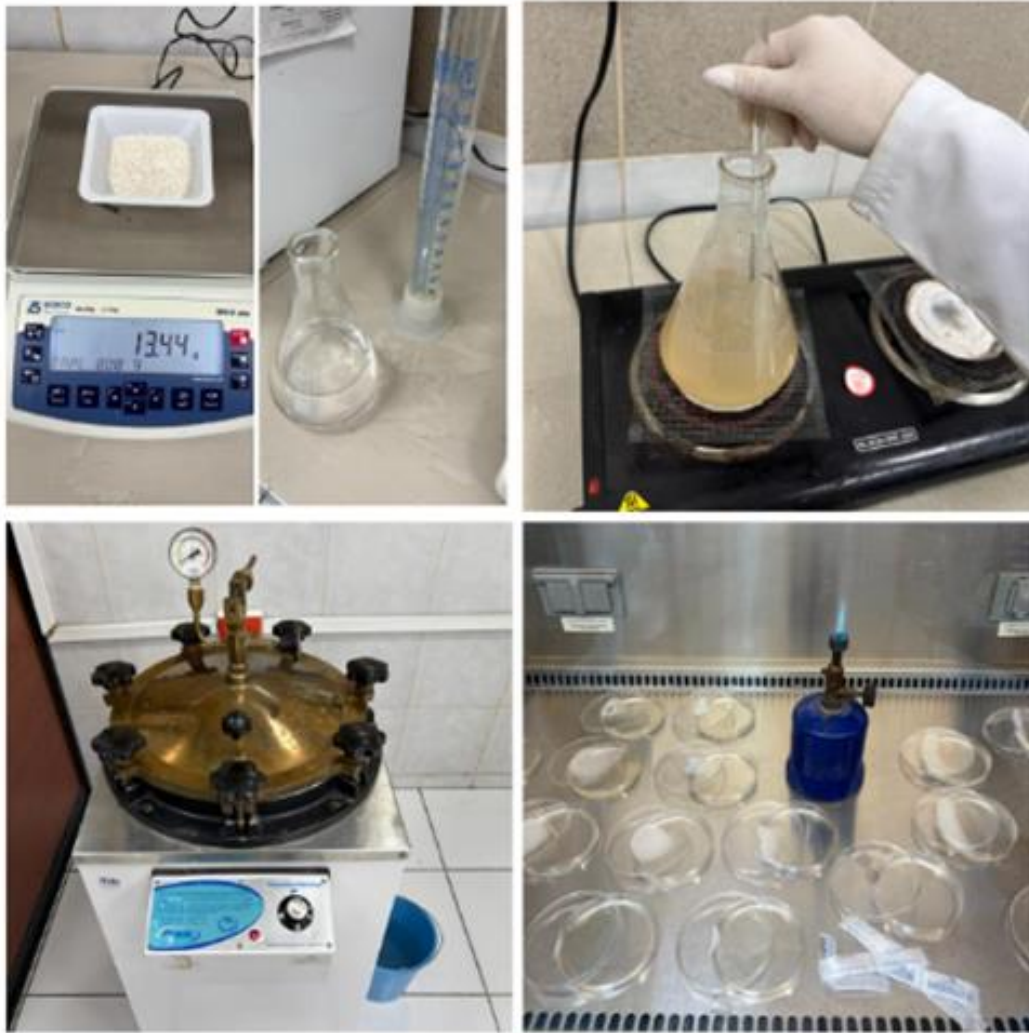
## **Hierba Buena - *Mentha spicata***



*Figura 12. Planta medicinal: Hierba Buena – Mentha spicata. Elaboración propia.*

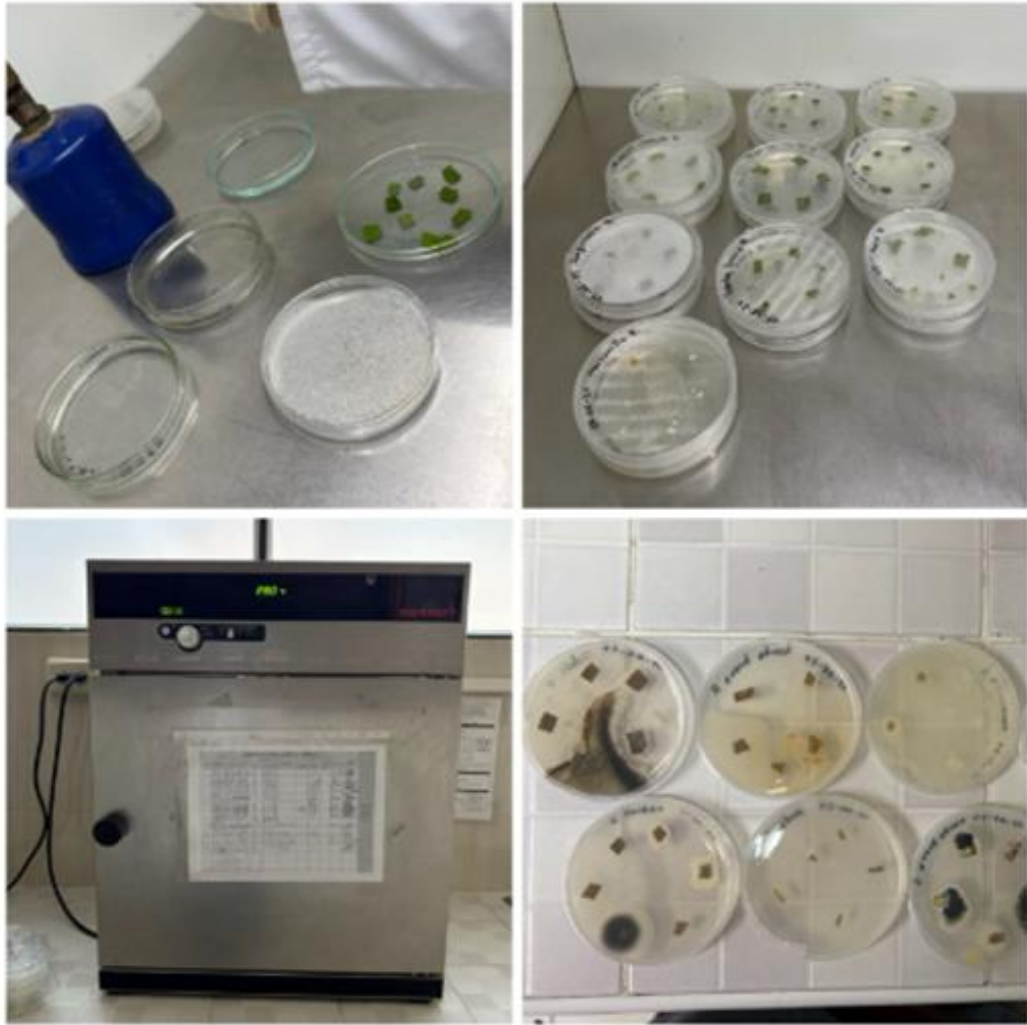
## **Anexo 2. Registro fotográfico del aislamiento de hongos endófitos**

Este anexo presenta una secuencia visual del proceso experimental realizado en el laboratorio. Se incluye la preparación del medio de cultivo PDA, así como las distintas etapas del aislamiento de hongos endófitos a partir de fragmentos vegetales obtenidos. Las imágenes documentan desde la preparación del medio hasta la siembra, incubación y crecimiento fúngico en condiciones controladas.



*Figura 13. Preparación del medio de cultivo*

*Nota. a) Pesado del medio en polvo; b) Medición de agua destilada; c) Disolución y calentamiento del medio; d) Esterilización en autoclave; e) Vertido del medio en cajas Petri en campana de flujo laminar. Elaboración propia a partir de fotografías del proceso de laboratorio.*



*Figura 14. Registro fotográfico del aislamiento de hongos endófitos*

*Nota. a) Desinfección superficial y preparación de fragmentos vegetales; b) Siembra de fragmentos en medio PDA; c) Incubación en estufa a 28 °C; d) Crecimiento de colonias fúngicas en medio PDA. Elaboración propia.*

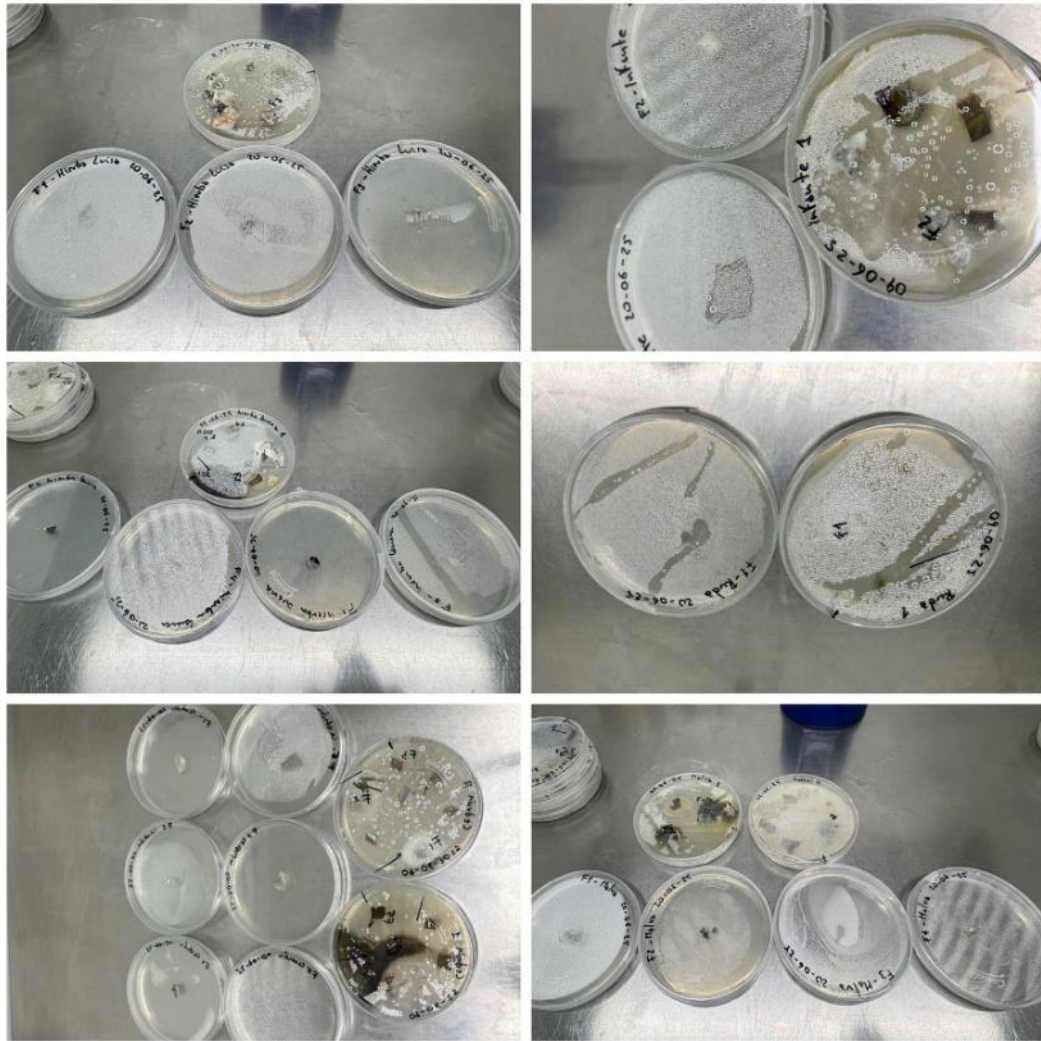


Figura 15. Subcultivo de hongos endófitos en medio PDA para obtención de cultivos puros.

Nota. a) Cepas obtenidas a partir de fragmentos de *Aloysia citrodora* (Cedrón); b) Cepas de *Mentha × piperita* (Hierba buena); c) Cepas de *Aloysia citrodora* (Hierba luisa); d) Cepas de *Malva sylvestris* (Malva); e) Cepas de *Ruta graveolens* (Ruda); f) Cepas de *Bidens pilosa* (Infante). Elaboración propia.

### Anexo 3. Tablas de descripción macroscópica y microscópica de las cepas aisladas.

En este apartado se presentan las tablas que resumen la descripción morfológica de las cepas aisladas. Se detallan aspectos macroscópicos (color, textura, forma de la colonia) y características observadas en microscopio óptico, lo que complementa la información fotográfica y cuantitativa expuesta en los capítulos de resultados.

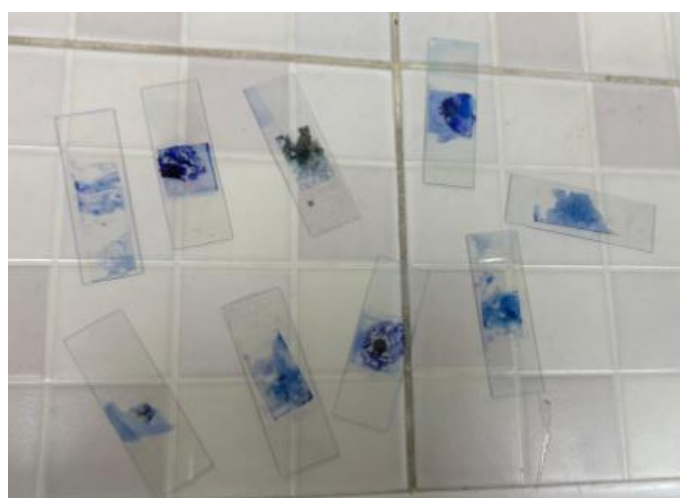


Figura 16. Preparaciones en portaobjetos teñidas con azul de metileno para la observación microscópica de las hifas de hongos endófitos aislados. Elaboración propia.




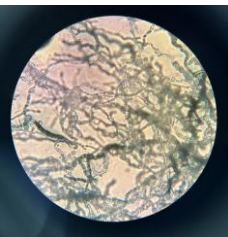
Planta medicinal	Código	Cepa/ hongo	Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico	Descripción breve
Infante - <i>Clinopodium brownei</i>	F1	<i>Rhizopus o Mucor</i>			Hifa septada con esporangio terminal globoso, morfología característica de hongos filamentosos con reproducción asexual mediante esporangios.
	F2	<i>Mycelia sterilia</i>			Hifas septadas, ramificadas, sin presencia evidente de estructuras reproductivas. Micelio homogéneo, compatible con estado vegetativo.

Tabla 4. Descripción macroscópica y microscópica de Infante. Elaboración propia.


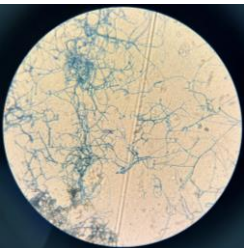
Planta medicinal	Código	Cepa/ hongo	Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico	Descripción breve
Ruda - <i>Ruta graveolens</i>	F1	<i>Aspergillus u hongo saprófito</i>			Crecimiento micelial blanco, de aspecto algodonoso y cobertura homogénea en la superficie del medio. Al microscopio, se observa únicamente hifa septada sin estructuras reproductivas diferenciadas. Identificación preliminar como hongo filamentoso saprófito.

Tabla 5. Descripción macroscópica y microscópica de Ruda. Elaboración propia.


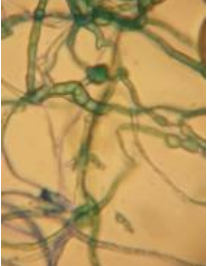




Planta medicinal	Código	Cepa/ hongo	Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico	Descripción breve
Malva - <i>Malva sylvestris</i>	F1	<i>Rhizopus</i>			Colonia densa, de color marrón oscuro con borde más claro; micelio aéreo abundante; hifas cenocíticas y esporangios esféricos visibles.
	F2	<i>Rhizopus</i>			Colonia algodonosa, crecimiento limitado, pigmentación amarillenta central; hifas hialinas y esporangios terminales.
	F3	<i>Rhizopus</i>			Colonia compacta, tono marrón con centro elevado; micelio superficial; hifas no septadas y esporangios bien definidos.

Tabla 6. Descripción macroscópica y microscópica de Malva. Elaboración propia.

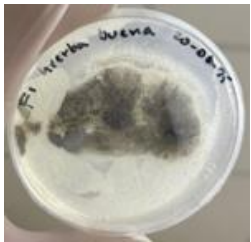






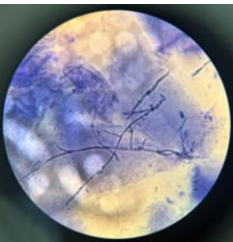
Planta medicinal	Código	Cepa/ hongo	Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico	Descripción breve
Hierba buena - <i>Mentha spicata</i>	F1	<i>Aspergillus</i>			Colonia pigmentada negra, con borde claro, textura seca
	F2	<i>Rhizopus</i> u otro zigomiceto.			Hifa septada con esporangio terminal globoso, observada al microscopio. Morfología característica de hongos con reproducción asexual mediante esporangios
	F4	<i>Rhizopus</i> u otro zigomiceto.			Hifa septada con esporangio terminal globoso, observada al microscopio. Morfología característica de hongos con reproducción asexual mediante esporangios
	F5	<i>Mycelia sterilia</i>			Colonia de micelio blanco cremoso, expansión irregular, con zonas centrales compactas y margen laxo.

Tabla 7. Descripción macroscópica y microscópica de Hierba Buena. Elaboración propia.


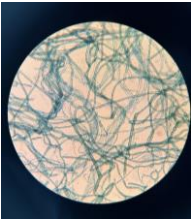

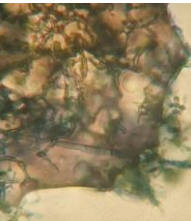

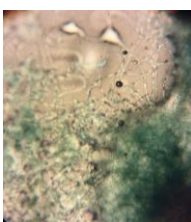



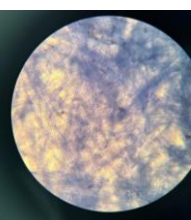


Planta medicinal	Código	Cepa/ hongo	Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico	Descripción breve
Cedrón - Aloysia citriodora	F1	<i>Mycelia sterilia</i>			Crecimiento micelial blanco, denso, con aspecto algodonoso y cobertura homogénea. No se observaron estructuras esporuladas a simple vista.
	F2	<i>Cladosporium</i>			Micelio blanco con zonas oscuras. Al microscopio se observan hifas septadas y ramificadas, con estructuras globosas que sugieren esporangios inmaduros. Crecimiento aéreo irregular y pigmentación localizada.
	F3	<i>Cladosporium</i>			Colonia con crecimiento aéreo y zonas centrales de coloración grisácea a negra, probable desarrollo de conidios o esporangios.
	F4	<i>Fusarium</i>			Micelio superficial denso, coloración marrón claro, aspecto aterciopelado. Distribución uniforme en la superficie del medio.
	F5	<i>Mycelia sterilia</i>			Crecimiento de micelio blanco disperso con zonas de pigmentación amarillenta. Se observan sectores más compactos, sin esporulación evidente.
	F6	<i>Alternaria</i>			Micelio con abundante formación de estructuras negras, posible desarrollo de cuerpos reproductivos. Cobertura parcial de la superficie.

Tabla 8. Descripción macroscópica y microscópica de Cedrón. Elaboración propia.




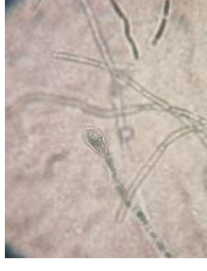
Planta medicinal	Código	Cepa/ hongo	Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico	Descripción breve
Hierba Luisa - <i>Aloysia citriodora</i>	F1	Ascomiceto filamentoso, posiblemente <i>Penicillium</i>			Hifa septada con vesícula terminal que porta conidios en formación, distribución en cadenas. Morfología compatible con hongos filamentosos con reproducción asexual por conidios, probable <i>Penicillium</i> u otro ascomiceto.
	F2	Ascomiceto filamentoso, posiblemente <i>Penicillium</i>			Hifa septada con vesícula terminal que porta conidios en formación, distribución en cadenas. Morfología compatible con hongos filamentosos con reproducción asexual por conidios, probable <i>Penicillium</i> u otro ascomiceto.

Tabla 9. Descripción macroscópica y microscópica de Hierba Luisa. Elaboración propia.

#### Anexo 4. Pruebas de tolerancia de aislados fúngicos frente a hidrocarburos

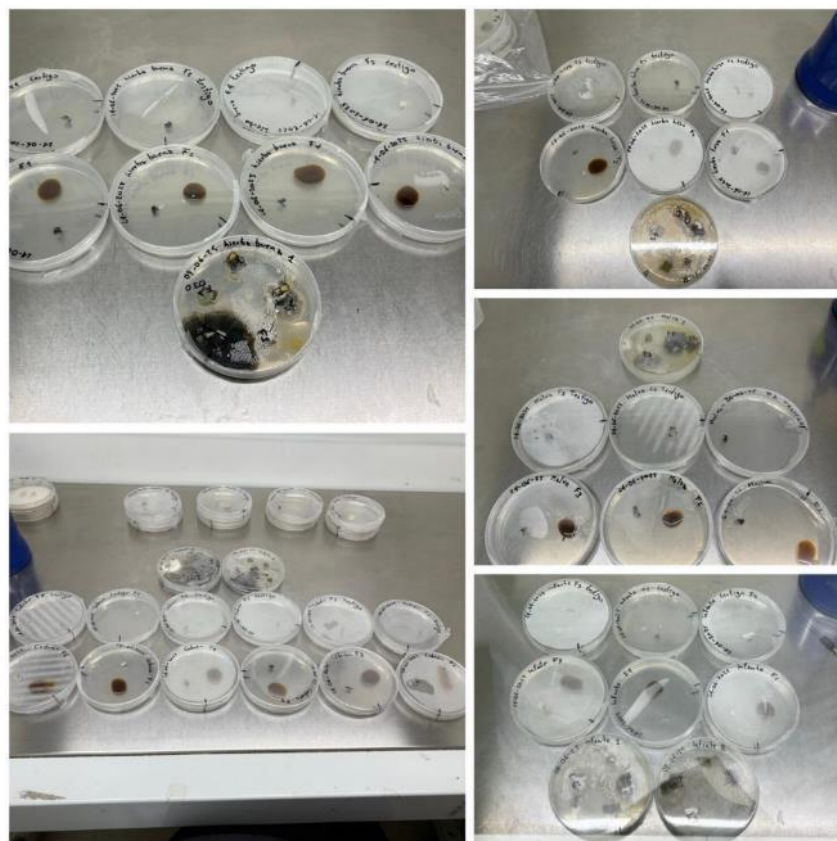


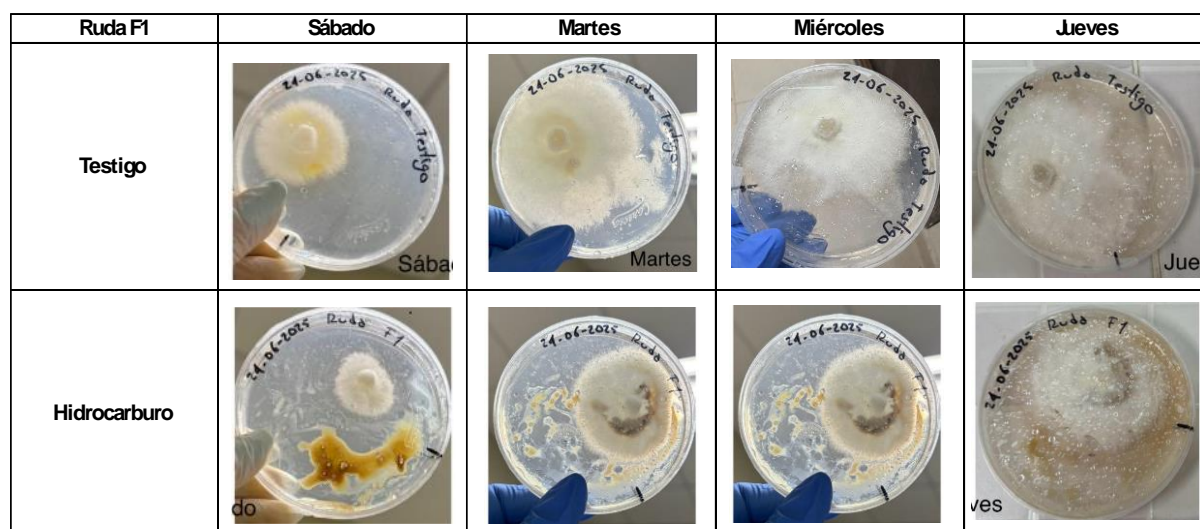
Figura 17. Pruebas de Tolerancia de aislados fúngicos frente a hidrocarburos

*Nota. Se observa el desarrollo diferencial de las cepas endófitas aisladas en medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Las placas que contienen hidrocarburo permiten contrastar el crecimiento de los hongos en presencia del hidrocarburo respecto a los testigos sin contaminante. Las muestras corresponden a subcultivos obtenidos de distintas plantas medicinales seleccionadas. Elaboración propia.*

#### **Anexo 4.1. Evidencias fotográficas**

En este anexo se presentan imágenes que documentan el crecimiento micelial de las cepas de hongos endófitos evaluadas en medios de cultivo control y contaminado con hidrocarburo. Las fotografías fueron tomadas durante el periodo de incubación y muestran las diferencias en la expansión de las colonias, la producción de pigmentos y otros cambios morfológicos asociados a la respuesta de cada cepa frente al contaminante.

Cada figura incluye la identificación de la especie hospedante, la condición del medio de cultivo y la fecha de registro, lo que permite visualizar de manera detallada la evolución temporal del crecimiento micelial.



*Figura 18. Registro fotográfico de la tolerancia de la cepa de la Ruda F1*

*Nota. Cultivo en medio PDA a 28 °C durante los días de incubación. Se observa el crecimiento en condiciones de testigo (fila superior) y con hidrocarburo (fila inferior). Elaboración propia.*

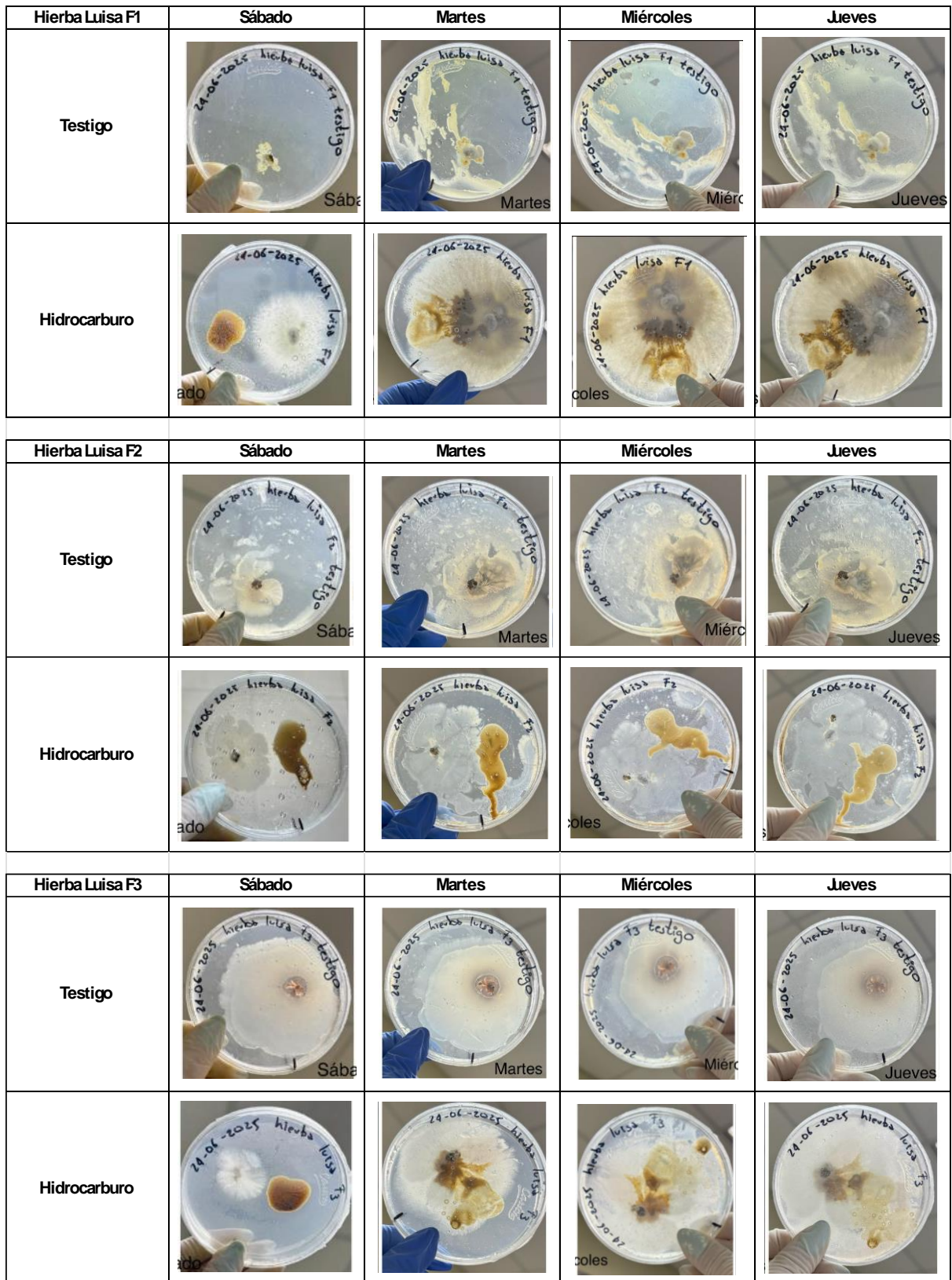


Figura 19. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Hierba Luisa F1, F2 y F3

Nota. Cultivo en medio PDA a 28 °C durante los días de incubación. Se observa el crecimiento en condiciones de testigo (fila superior) y con hidrocarburo (fila inferior). Elaboración propia.

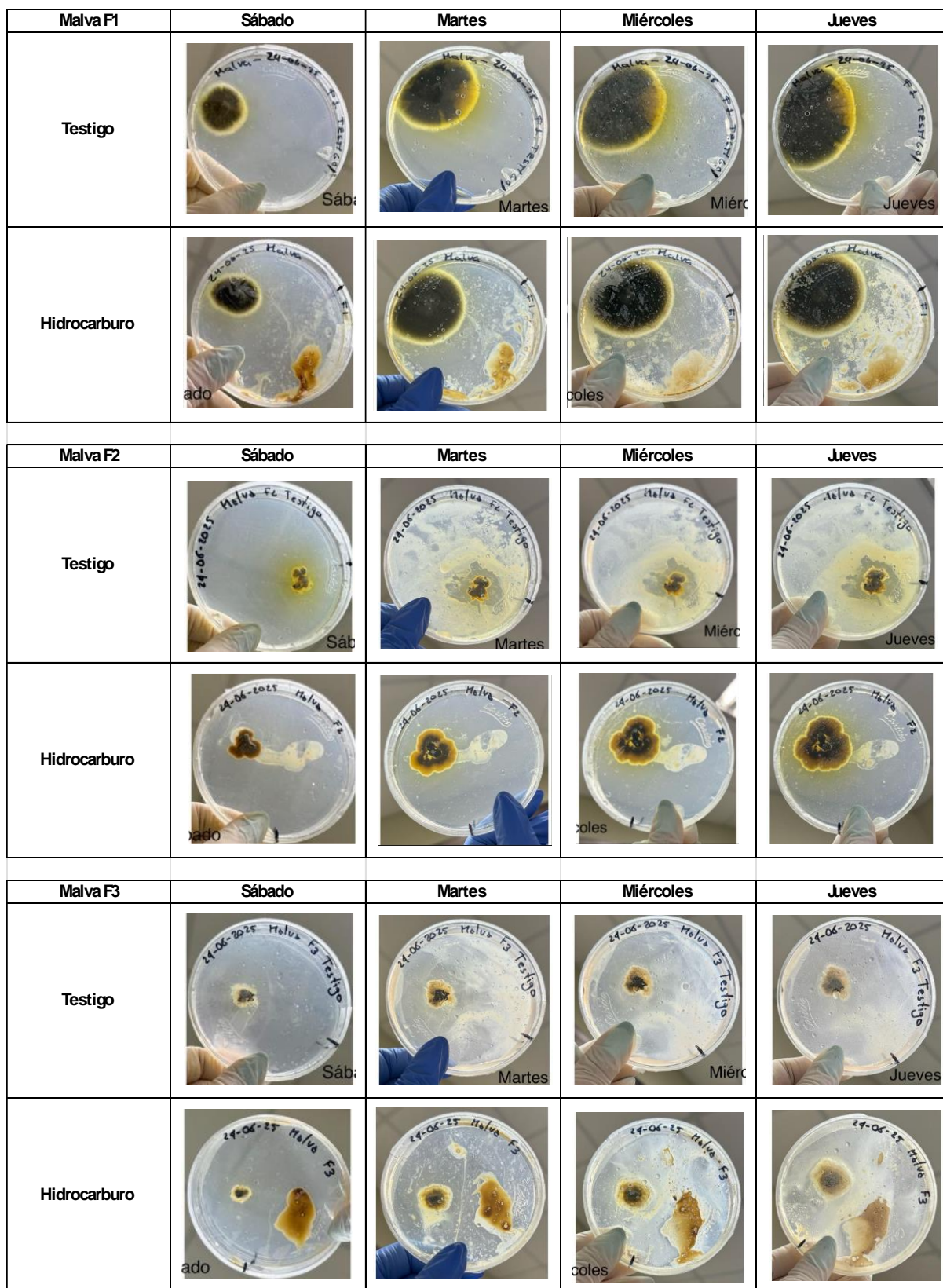


Figura 20. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Malva F1, F2 y F3

Nota. Cultivo en medio PDA a 28 °C durante los días de incubación. Se observa el crecimiento en condiciones de testigo (fila superior) y con hidrocarburo (fila inferior). Elaboración propia.


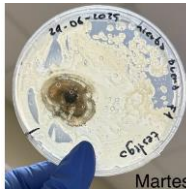
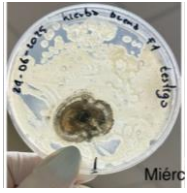

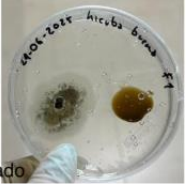

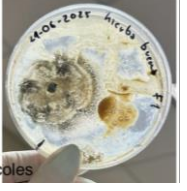


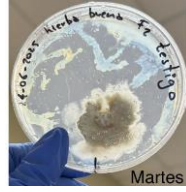




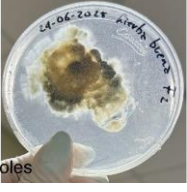
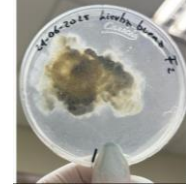
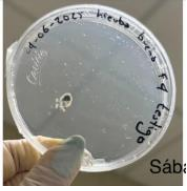
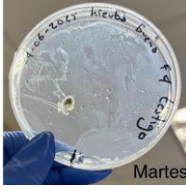












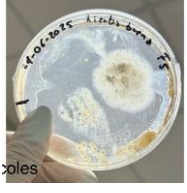
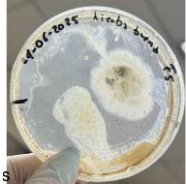
Hierba Buena F1	Sábado	Martes	Miércoles	Jueves
Testigo				
Hidrocarburo				
Hierba Buena F2	Sábado	Martes	Miércoles	Jueves
Testigo				
Hidrocarburo				
Hierba Buena F4	Sábado	Martes	Miércoles	Jueves
Testigo				
Hidrocarburo				
Hierba Buena F5	Sábado	Martes	Miércoles	Jueves
Testigo				
Hidrocarburo				

Figura 21. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Hierba Buena F1, F2, F4 y F5

Nota. Cultivo en medio PDA a 28 °C durante los días de incubación. Se observa el crecimiento en condiciones de testigo (fila superior) y con hidrocarburo (fila inferior). Elaboración propia.

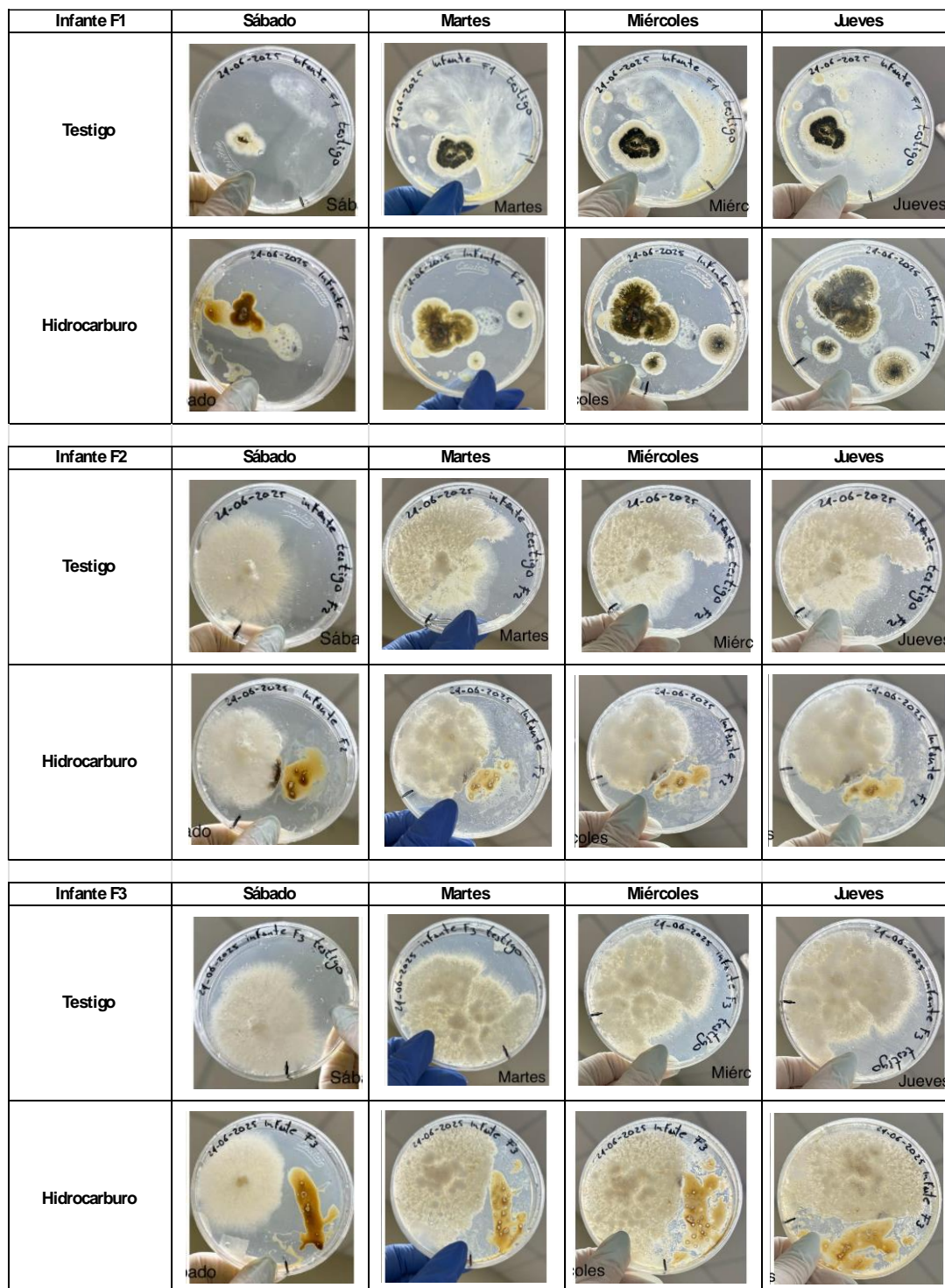


Figura 22. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Infante F1, F2 y F3

Nota. Cultivo en medio PDA a 28 °C durante los días de incubación. Se observa el crecimiento en condiciones de testigo (fila superior) y con hidrocarburo (fila inferior). Elaboración propia.

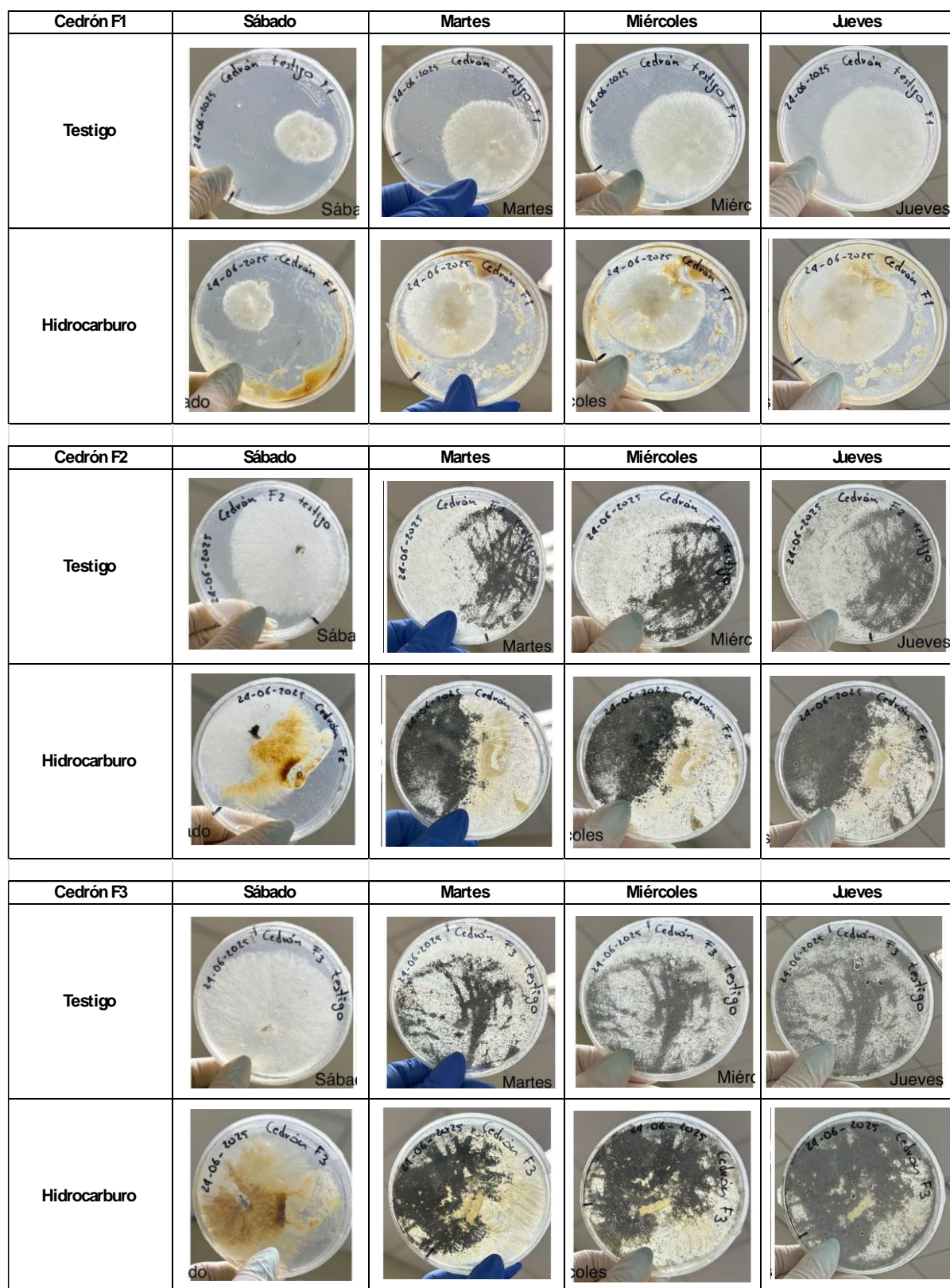


Figura 23. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Cedrón F1, F2 y F3

Nota. Cultivo en medio PDA a 28 °C durante los días de incubación. Se observa el crecimiento en condiciones de testigo (fila superior) y con hidrocarburo (fila inferior). Elaboración propia.

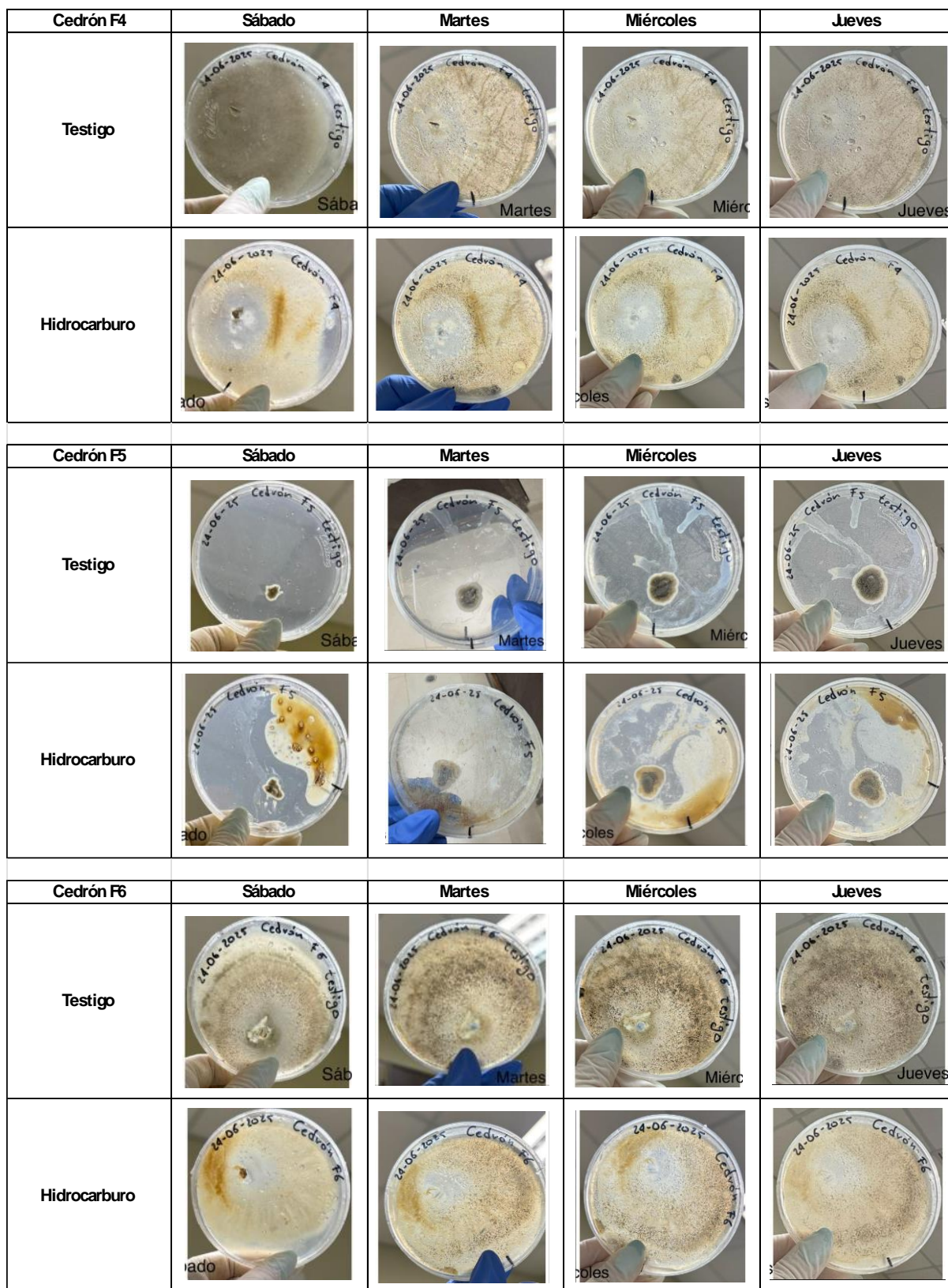


Figura 24. Registro fotográfico de la tolerancia de las cepas de Cedrón F4, F5 y F6.

Nota. Cultivo en medio PDA a 28 °C durante los días de incubación. Se observa el crecimiento en condiciones de testigo (fila superior) y con hidrocarburo (fila inferior). Elaboración propia.

## Anexo 4.2. Registro diario

En este anexo se presenta el detalle de las mediciones diarias del diámetro de crecimiento micelial (en centímetros) de las cepas evaluadas en medios de control y contaminados con hidrocarburo. Esta información complementa la clasificación final de tolerancia y permite observar la evolución temporal del desarrollo micelial.

Fecha		Sábado 28/06/2025		Martes 01/07/2025		Miércoles 02/07/2025		Jueves 03/07/2025	
Planta	Cepa	Testigo (cm)	Hidrocarburo (cm)	Testigo (cm)	Hidrocarburo (cm)	Testigo (cm)	Hidrocarburo (cm)	Testigo (cm)	Hidrocarburo (cm)
Hierba luisa	F1	1,5	5	1,5	8,5	2	9	2	9
	F2	4	4,5	7,5	5,5	8	7	8,5	7,5
	F3	7	3	7	7	7	7,5	7	8,5
Hierba buena	F1	3	3,5	8	6	8,5	7	8,5	8
	F2	3	3	3,5	4,5	4,3	6,5	5	7
	F4	1	1	1	2	1	2,2	1,2	2,3
	F5	2,5	2,3	4	3,5	5,3	4	5,5	4,4
Infante	F1	2,5	3	3	4	3,5	4,5	3,5	4,5
	F2	5	5	6	6	6,2	6	6,5	6
	F3	6,5	5	7	5	7	6	7	6,5
Malva	F1	3	3	5	5	6	5,6	6,5	5,8
	F2	1,5	2	1,5	3	1,5	3,2	1,8	3,6
	F3	1,5	1	2	2	2	2,2	2,3	2,6
Cedrón	F1	4	3	5,5	5,5	6,5	6,5	7	7
	F2	7	3	9	9	9	9	9	9
	F3	9	9	9	9	9	9	9	9
	F4	9	9	9	9	9	9	9	9
	F5	1	1,5	1,8	2	2	2	2,3	2,3
	F6	9	9	9	9	9	9	9	9
Ruda	F1	4	3	6,5	5,5	8	6	8,5	6,5

Tabla 10. Registro diario de las pruebas de tolerancia de aislados fúngicos frente a hidrocarburos.

*Elaboración propia.*