

Caracterización del aislado fúngico 2 (C2) capaz de utilizar polímeros celulósicos y plásticos como fuente de carbono

Characterization of fungal isolate 2 (C2) capable of utilizing cellulosic and plastic polymers as a carbon source

Lisette Estefanía Gasca-Zamora, Ximena Manriquez-Mendoza, Leslie Ximena López-Rangel,
Irazú Margarita Calderón-Tinajero, Lérica Liss Flores-Villavicencio, Julio César Villagómez-Castro
Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato
castroj@ugto.mx

Resumen

Los plásticos han revolucionado la vida moderna, pero la acumulación en los diferentes ecosistemas han generado una crisis de contaminación global impulsada por nuestra dependencia y demanda de materiales desechables de bajo costo. La biodegradación de polímeros plásticos por hongos, mediante enzimas que los biodegradan es un desafío, sin embargo, es una opción atractiva y ecológica. En este sentido, previamente se obtuvo un consorcio fúngico capaz de crecer en tereftalato de polietileno (PET) y se caracterizó el crecimiento de uno de los aislados fúngicos (C2) en diferentes polímeros celulósicos y plásticos como única fuente de carbono. Los resultados indican un crecimiento diferencial en distintos medios de cultivo, destacando su crecimiento óptimo en medio líquido MEA a pH 5.5 y en medio sólido PDA pH 5.6, donde alcanzó el mayor crecimiento radial y presentó características morfológicas distintivas. Durante su cultivo en MMMs adicionado con diferentes fuentes de carbono (polímeros celulósicos o plásticos), se indujeron actividades enzimáticas como β -glucosidasa, celobiosidasa y esterasa, que se secretan al medio de cultivo en función del polímero utilizado como fuente de carbono. La identificación de las condiciones óptimas para su crecimiento representa un paso clave en la caracterización del hongo y en la validación de su posible uso como agente biodegradador en entornos contaminados por polímeros. Estos resultados sugieren que C2 es viable para estudios posteriores enfocados en la biodegradación de polímeros celulósicos y plásticos, fortaleciendo su posible aplicación en procesos de mejoramiento ambiental.

Palabras clave: polímeros; hongo; celulasas; biodegradación.

Abstract

Plastics have revolutionized modern life, but their accumulation in different ecosystems has generated a global pollution crisis driven by our reliance on, and demand for low-cost, disposable materials. The biodegradation of plastic polymers by fungi, using enzymes that biodegrade them, is a challenging but attractive and environmentally friendly option. In this regard, a fungal consortium capable of growing on polyethylene terephthalate (PET) was previously obtained, and the growth of one of the fungal isolates (C2) was characterized on various cellulosic and plastic polymers as the sole carbon source. The results indicate differential growth in different culture media, highlighting its optimal growth in MEA liquid medium at pH 5.5 and in PDA solid medium at pH 5.6, where it achieved the greatest radial growth and presented distinctive morphological characteristics. During its cultivation in MMMs supplemented with different carbon sources (cellulosic or plastic polymers), enzymatic activities such as β -glucosidase, cellobiosidase, and esterase were induced, which are secreted into the culture medium depending on the polymer used as a carbon source. Identifying optimal growth conditions represents a key step in characterizing the fungus and validating its potential use as a biodegrading agent in polymer-contaminated environments. These results suggest that C2 is viable for further studies focused on the biodegradation of cellulosic polymers and plastics, strengthening its potential application in environmental improvement processes.

Keywords: polymers; fungus; cellulases; biodegradation.

Introducción

Actualmente la contaminación por plásticos representa un problema ambiental de gran magnitud debido a la acumulación de partículas y objetos plásticos que perjudican tanto a los ecosistemas como a la salud humana. Estos contaminantes se clasifican según su tamaño en microplásticos, mesoplásticos y megaplásticos, los cuales se encuentran comúnmente en productos de uso cotidiano como envases, botellas, bolsas, calzado (Bucci y col., 2020).

Hidrolasas como una alternativa en la biodegradación de polímeros

La estructura de un polímero se define como la cadena macromolecular formada por un gran número de unidades repetitivas denominadas monómeros, generalmente miles o, en algunos casos, cientos de miles. En este sentido, los plásticos se clasifican de acuerdo a su estructura polimérica, y así encontramos los distintos tipos de polímeros: polietileno, polipropileno, poliacrílicos, poliésteres, poliamidas, siliconas, poliuretanos y plásticos halogenados; presentando diferentes propiedades físicas dependiendo de la estructura del polímero como dureza, densidad, resistencia a la tracción, resistencia al calor y temperatura de transición vítrea (Rhodes, 2021). Por lo cual, el plástico es un material muy práctico, duradero, resistente a la degradación, inerte y fácil de moldear, con unos costes de producción muy bajos (Bajt, 2021). La producción de plástico puede ser de origen biológico o sintético. Los plásticos de origen biológico están hechos de compuestos naturales como por ejemplo: lignina, celulosa y hemicelulosa entre otros. Por el contrario, el petróleo es el componente principal de los plásticos sintéticos, que generalmente se denominan no biodegradables (Rhodes, 2021). Siendo los productos plásticos, la principal fuente de contaminación marina, acuática y terrestre (Rhodes, 2021; Bajt, 2021; <http://plastic-pollution.org>).

Diversas actividades de la vida cotidiana provocan la introducción de contaminantes plásticos en los diferentes ecosistemas; el material plástico es muy resistente en el entorno natural y tarda siglos en descomponerse. En este sentido, la biodegradación de los plásticos es un proceso muy lento, ya que pocos microorganismos se han reportado capaces de degradar este tipo de polímeros (Edwards y col., 2022; Bhavsar y col., 2023; Kim y col., 2022). Por lo tanto, es necesario desarrollar un proceso eficaz de biodegradación de plásticos, incidiendo en la búsqueda de microorganismos capaces de hidrolizar diferentes tipos de polímeros; gracias a que cuentan con las hidrolasas, enzimas clave en la biodegradación de los polímeros presentes en el ambiente (Vishnu y col., 2025). Las hidrolasas catalizan reacciones que implican ruptura hidrolítica (por adición de agua), lo que produce la descomposición de una molécula más grande en moléculas más pequeñas. El proceso de degradación hidrolítica incluye la difusión de moléculas de agua, que comienza en las áreas amorfas y puede desencadenar la ruptura de los enlaces éster; las enzimas implicadas en la hidrólisis del enlace éster son las esterasas, lipasas, proteasas, ureasas o cutinasas (Vishnu y col., 2025).

En este sentido, la degradación enzimática de los plásticos presenta desafíos y oportunidades para la gestión sostenible de los residuos plásticos. Con base en estos antecedentes, nos propusimos como objetivo en este trabajo, continuar con la caracterización morfológica y molecular del aislado 2 (C2) recuperado de un consorcio fúngico capaz de crecer en una suspensión acuosa de tereftalato de polietileno (PET), así como caracterizar las actividades enzimáticas posiblemente involucradas en la degradación de polímeros. Consideramos que los diferentes miembros del consorcio fúngico, y en particular el aislado 2, ofrecen un gran potencial para el avance en el estudio de la biodegradación de los polímeros celulósicos y plásticos (Ruano-Najarro y Villagómez-Castro, 2018; Silva-Rodríguez, 2019; Magaña-Martínez y col., 2022; Silva-Rodríguez y col., 2023; Calderón-Tinajero, 2024).

Material y Métodos

Cinética de crecimiento del aislado fúngico 2 (C2) en diferentes medios de cultivo

Se cultivó C2 en medio Agar Papa-Dextrosa (PDA) o Agar de Extracto de Levadura, Peptona y Dextrosa (YPD) pH 4.5 a 28 °C durante 12 días, para la conservación de la cepa y para el cultivo inicial. Posteriormente, la cinética de crecimiento se realizó al sembrar por picadura en diferentes medios de cultivo: PDA, YPD, Agar Saboraud (SA), Agar Extracto de Malta (MEA), Medio Mínimo de Mathur sales (MMMS), y Agar Avena (OA). Las placas (90x15 mm) se incubaron a 28 °C y se registró el crecimiento fúngico (diámetro en cm), durante

10 días. Además, se analizó la producción de conidios, los cuales fueron utilizados para la determinación del tamaño. Por otra parte, se analizó el crecimiento de C2 en MEA pH 4.6 en condición anaeróbica a 28 °C por 7 días.

Análisis macroscópico y microscópico de C2

Las características macroscópicas de C2 crecido en los diferentes medios de cultivo, utilizados en la cinética de crecimiento, se observaron en un microscopio estereoscopio (Nikon modelo C-PS) y se describieron las características de la colonia. Por otra parte, para el análisis microscópico se realizaron microcultivos en los diferentes medios: YPD, SA, PDA, MEA, MMMS y OA; y se incubaron a 28 °C durante 7 días. Después, se realizó una tinción con azul de lactofenol y se observaron mediante microscopía de campo claro y tinción con Blanco de Calcofluor en microscopía de fluorescencia (Microscopio Leica DMLS con una cámara AxioCam 305 color Zeiss).

Caracterización de C2 en diferentes polímeros celulósicos y plásticos como fuente de carbono

En MMMS pH 4.5 se creció C2, adicionando como fuente de carbono diversos polímeros celulósicos como el celofán dulce (CD), carboximetilcelulosa (CMC), celulosa cristalina o avicel (CEL) o polímeros plásticos como el tereftalato de polietileno (PET), poliestireno (PES), polietileno de alta densidad (HDPE), y como control la glucosa (Glc) como única fuente de carbono. Para lo anterior, en viales con 8 mL de MMM se inocularon con un bocado de micelio (5 mm de diámetro) de C2 y se incubaron por 7 días a 28 °C en cultivo estático. Al término del tiempo de incubación, las muestras se centrifugaron a 2655 g por 10 minutos a 4 °C. En los sobrenadantes (SN) de cada período de incubación, se determinó la proteína total con el kit Pierce™ BCA Protein Assay y se analizó el perfil de proteínas totales secretadas mediante electroforesis en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE 10 %).

Determinación de la actividad enzimática secretada

En el SN se determinó la actividad enzimática de β -glucosidasa, celobiosidasa y acetilesterasa usando sustratos unidos a 4-metilumbeliferona (4-MU) (Hernández-Guzmán y col., 2016). La mezcla se incubó durante 30 min a 45 °C. Al término de la incubación, la reacción se paró adicionando 2 mL de solución amortiguadora de bicarbonato de sodio-hidróxido de sodio, 0.1 M, pH 10.4 y la fluorescencia liberada se determinó a una longitud de onda de excitación y emisión de 350 y 440 nm, respectivamente, utilizando un espectrofluorómetro Perkin-Elmer LS-5B.

Resultados

La caracterización morfológica del aislado fúngico C2 se realizó en diferentes medios de cultivo (Fig. 1), observando un mayor crecimiento fúngico con una textura rugosa aterciopelada y pigmentada en MEA pH 4.6, PDA pH 5.6 y SA pH 5.6 (Tabla 1). En contraste, en el medio YPD pH 6.3 y MMMS pH 4.5 se observó un menor crecimiento micelial; mientras que en OA pH 5.6 a pesar de un menor crecimiento micelial, la colonia presentó pigmentación (Fig. 1).

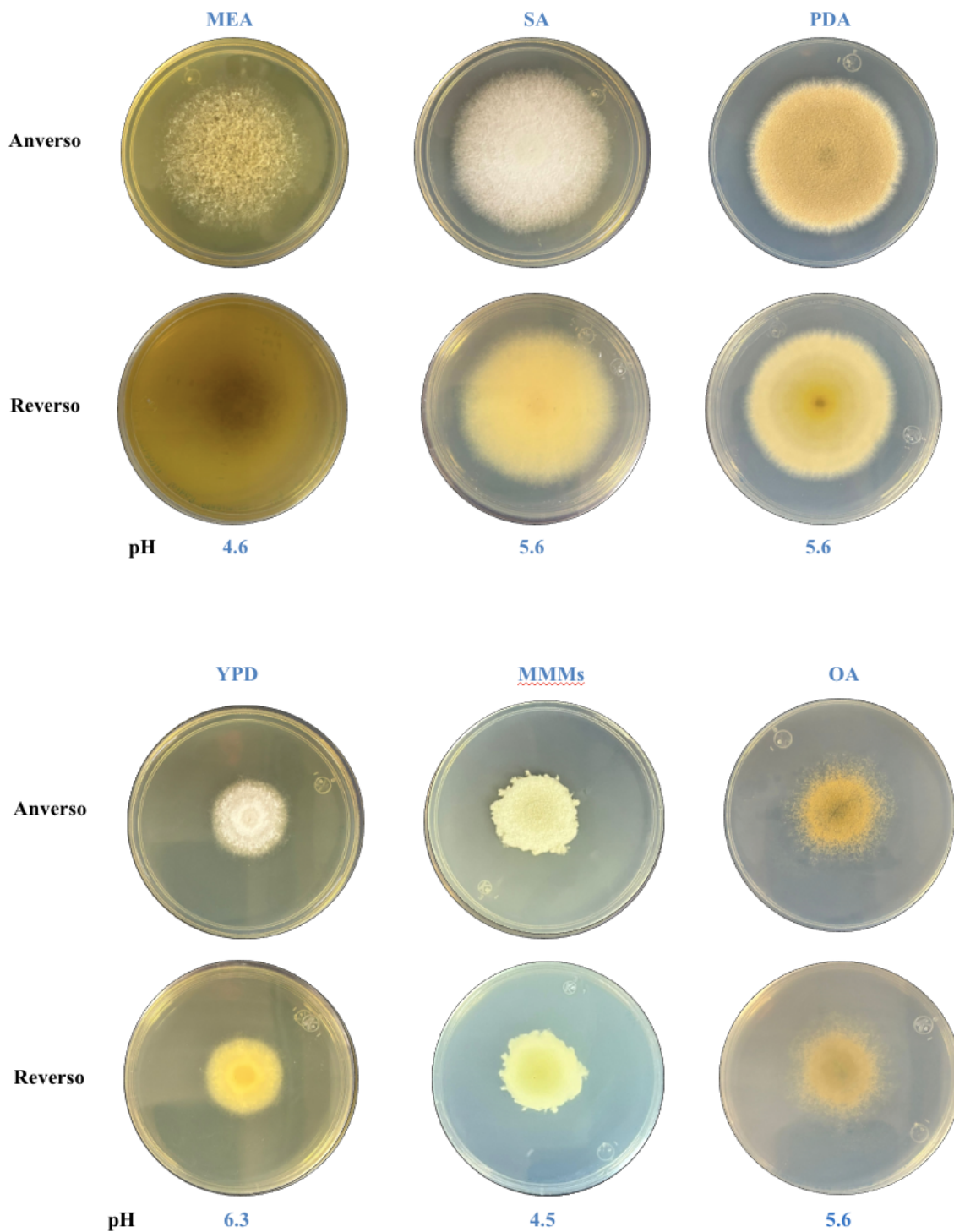


Figura 1. Morfología macroscópica del aislado fúngico C2 en diferentes medios de cultivo y pH.

Tabla 1. Caracterización de la morfología colonial del aislado fúngico C2 en diferentes medios de cultivo a los 10 días de crecimiento.

Medio de cultivo	Diámetro (10 d)	Forma	Borde	Transparencia	Brillo	Color	Textura	Elevación	Consistencia
MEA	53.7 mm	Circular	Filamentoso	Opaca	Sin brillo	Centro café y periferia café claro	Rugosa aterciopelada	Umbilicada	Suave
SA	55.0 mm	Circular	Filamentoso	Opaca	Sin brillo	Blanco	Rugosa aterciopelada	Umbilicada	Suave
YPD	32.7 mm	Circular	Filamentoso	Opaca	Sin brillo	Blanco	Rugosa aterciopelada	Umbilicada	Suave
PDA	58.7 mm	Circular	Filamentoso	Opaca	Sin brillo	Contorno blanco y centro verde café	Rugosa aterciopelada	Umbilicada	Suave
MMMs	34.7 mm	Circular	Rizoide	Opaca	Sin brillo	Blanco	Rugosa aterciopelada	Umbilicada	Suave
OA	36.3 mm	Circular	Filamentoso	Opaca	Sin brillo	Café oscuro y periferia café claro	Rugosa aterciopelada	Plana	Suave

El análisis microscópico de C2 en los diferentes medios de cultivo (Fig. 2) muestra un micelio con hifas hialinas y septadas. En los medios de cultivo como SA, MMMs y OA se observa en el extremo de la mayoría de las hifas los conidióforos, con la estructura característica de la metula y fialides con conidios.

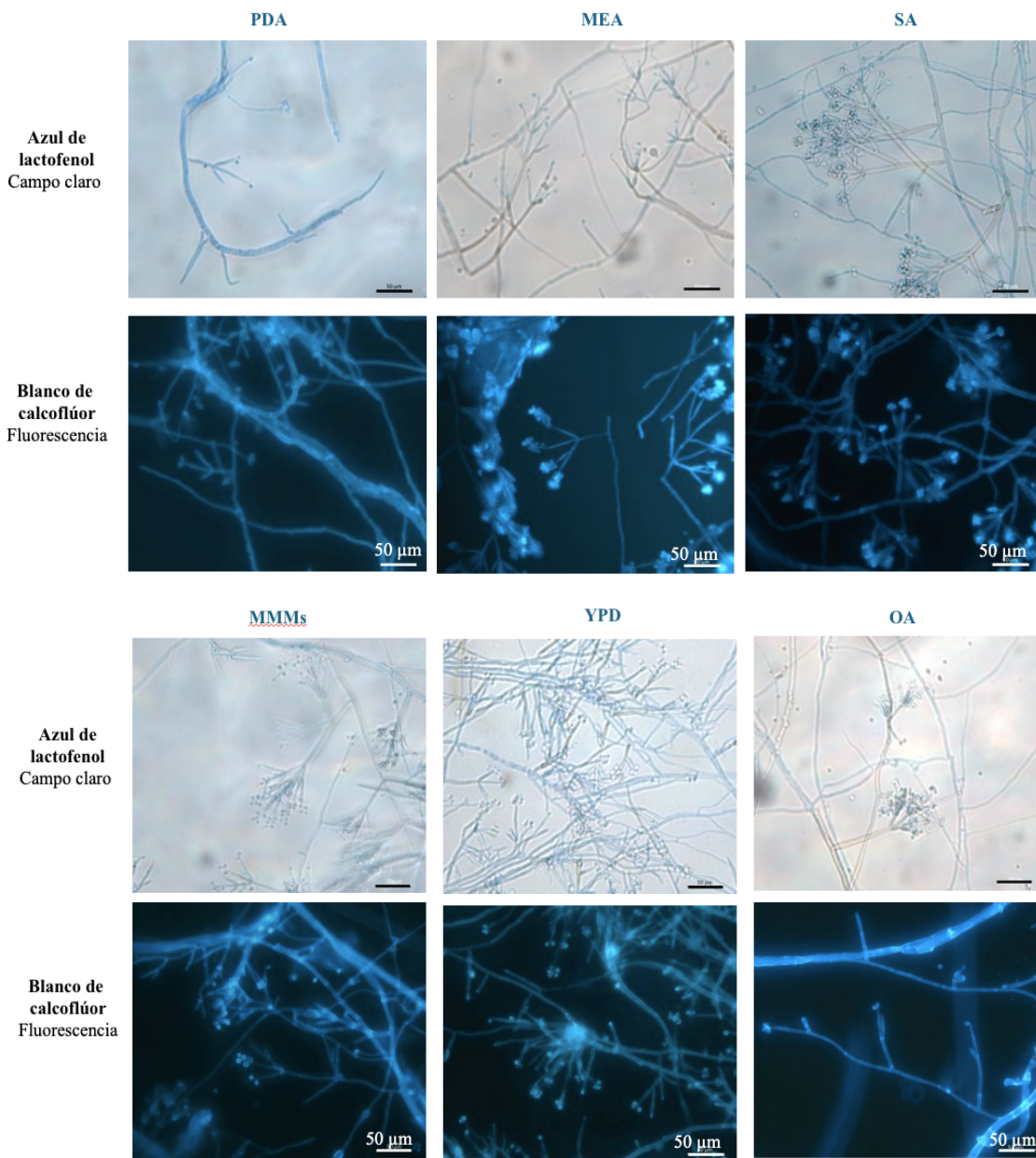


Figura 2. Morfología microscópica del aislado fúngico C2 en diferentes medios de cultivo.

Al determinar el tamaño del conidio de C2 en los diferentes medios de cultivo, se observaron cinco tamaños en un rango de 4.27 ± 0.59 – 7.30 ± 0.86 μm dependiendo del medio de cultivo (Fig. 3).

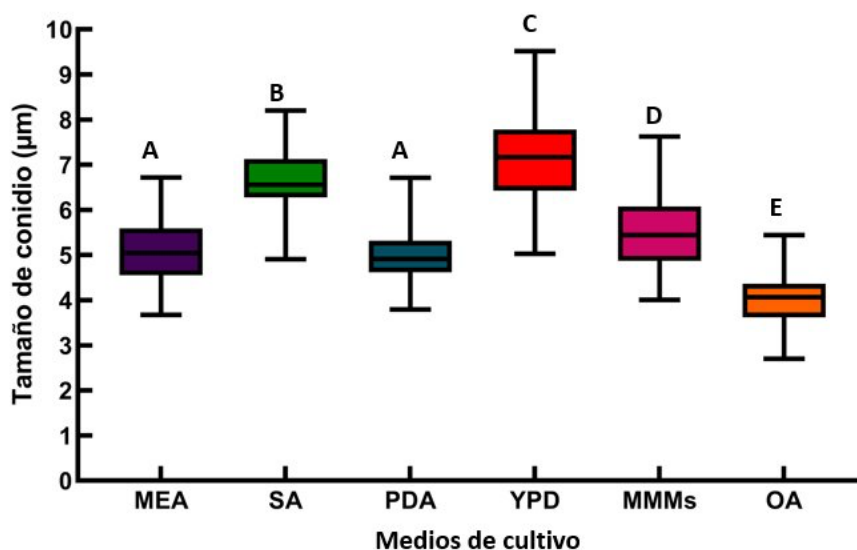


Figura 3. Determinación del tamaño del conidio del aislado fúngico C2 en diferentes medios de cultivo. ANOVA de una vía y post hoc la prueba Tukey Kramer para determinar diferencias significativas entre los medios de cultivo. (p value < 0.05).

Por otra parte, se analizó el crecimiento de C2 en condiciones anaeróbicas en medio MEA pH 4.6 a 7 días de crecimiento. Los resultados indicaron un crecimiento de C2 en condiciones de microaerofilia ya que muestra un crecimiento en la interfase del medio y el aceite (Fig. 4, flecha).

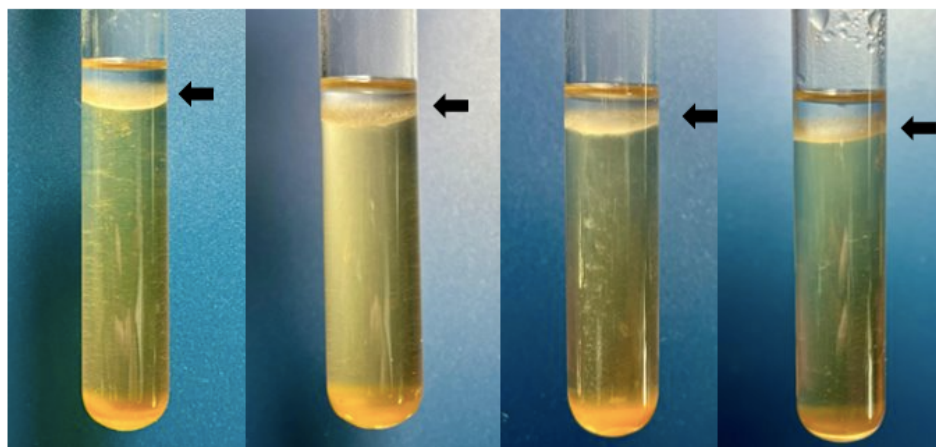


Figura 4. Crecimiento del aislado fúngico C2 en medio líquido de Malta pH 4.6 en condiciones anaeróbicas (7 días). Se observa un crecimiento en la interfase (Flecha).

En la figura 5 se muestra la capacidad de crecimiento de C2 en los diferentes polímeros celulósicos y plásticos. Primeramente, se muestran los viales en el día cero donde se puede observar el bocado del micelio de C2 y los polímeros insolubles como CEL, CD, PET, PES y HDPE. Posteriormente, el crecimiento de C2 a los 7 días en los diferentes sustratos celulósicos y plásticos, observándose un mayor crecimiento en CEL, CMC y PET seguido de GLU y HDPE, en contraste, un menor crecimiento en CD y PES (Fig. 5). Estos resultados indican una biodegradación de los diferentes polímeros de manera diferencial.

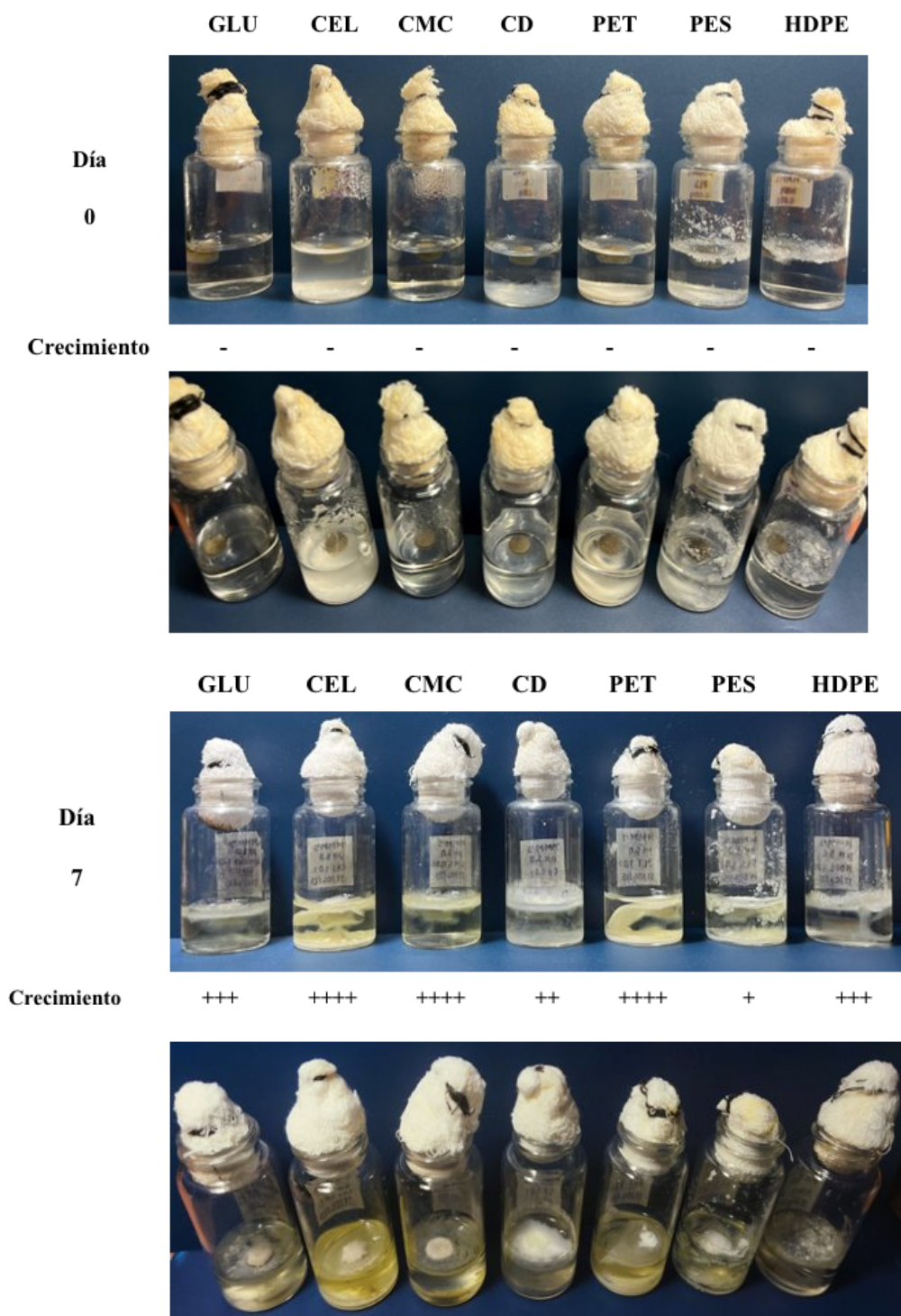


Figura 5. Crecimiento a los 7 días de cultivo del aislado fúngico C2 en diferentes polímeros celulósicos y plásticos. Celulosa cristalina o avicel (CEL), carboximetilcelulosa (CMC), celofán dulce (CD), tereftalato de polietileno (PET), poliestireno (PES), polietileno de alta densidad (HDPE).

Al analizar la actividad enzimática de las proteínas secretadas de C2 crecido en los diferentes polímeros celulósicos y plásticos (Fig. 6); se observó una mayor actividad de β -glucosidasa en HDPE seguido de CMC; en contraste, independientemente fueran polímeros celulósicos o plásticos se encontró una menor actividad enzimática de β -glucosidasa en los otros polímeros. Con respecto a la actividad de la celobiosidasa solo se presentó en CD. Sin embargo, la actividad enzimática de la acetilesterasa se presentó en todas las condiciones de cultivo de C2, siendo mayor la actividad en CMC seguida de HDPE.

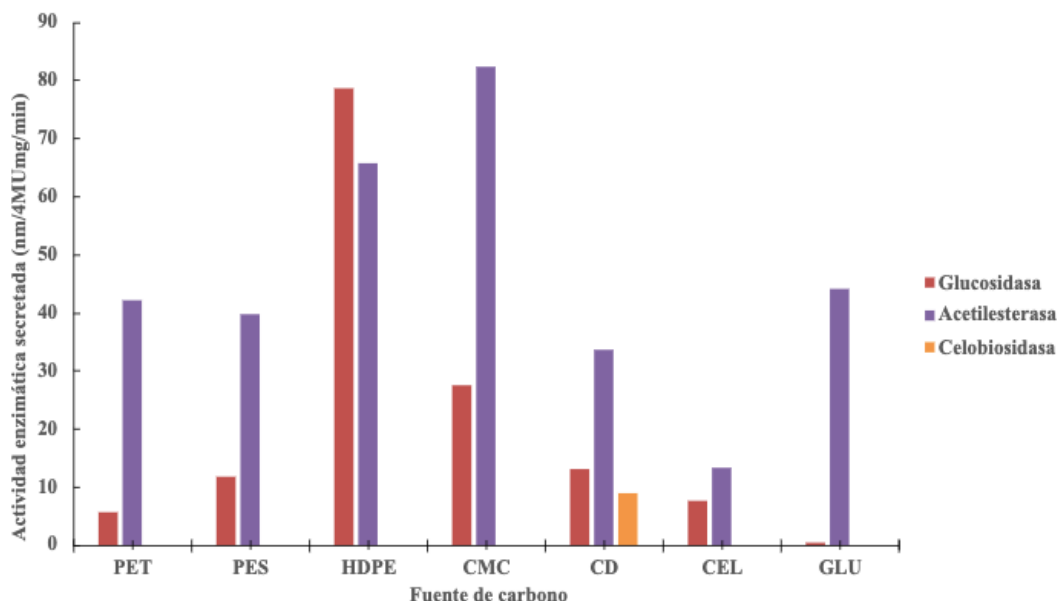


Figura 6. Determinación de la actividad enzimática del aislado fúngico C2 en diferentes polímeros celulósicos y plásticos a los 7 días de cultivo. Celulosa cristalina o avicel (CEL), carboximetilcelulosa (CMC), celofán dulce (CD), tereftalato de polietileno (PET), poliestireno (PES), polietileno de alta densidad (HDPE) y Glucosa (GLU) como control.

Conclusión

El aislado fúngico C2 posee un notable potencial para el crecimiento y desarrollo en distintos medios de cultivo, destacándose su crecimiento óptimo en medio líquido MEA a pH 5.5 y en medio sólido PDA pH 5.6, donde alcanzó el mayor crecimiento radial y presentó características morfológicas distintivas. Durante su cultivo en MMMs adicionado con diferentes fuentes de carbono (polímeros celulósicos o plásticos), se indujeron actividades enzimáticas (β -glucosidasa, celobiosidasa y esterasa) que se secretan al medio de cultivo en función del polímero utilizado como fuente de carbono.

Agradecimientos

Agradecimiento a la Universidad de Guanajuato (Proyecto 284/2025 de la CIIC 2025) y SECIHTI (Proyecto No. CBF2023-2024-3070) por el financiamiento otorgado al Dr. Julio César Villagómez Castro para la realización del proyecto. Al Ing. David Rendón Sauz, División de Ciencias Ambientales, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A. C. por el apoyo en la realización del análisis estadístico.

Referencias

- Bucci, K., Tulio, M., & Rochman, C. M. (2020). What is known and unknown about the effects of plastic pollution: A meta-analysis and systematic review. *Ecological Applications*, 30(2), e02044.
- Rhodes, C. J. (2018). Plastic pollution and potential solutions. *Science progress*, 101(3), 207–260.
- Bajt, O. (2021). From plastics to microplastics and organisms. *FEBS open bio*, 11(4), 954–966. <https://plastic-pollution.org/>
- Edwards, S., León-Zayas, R., Ditter, R., Laster, H., Sheehan, G., Anderson, O., Beattie, T., & Mellies, J. L. (2022). Microbial Consortia and Mixed Plastic Waste: Pangenomic Analysis Reveals Potential for Degradation of Multiple Plastic Types via Previously Identified PET Degrading Bacteria. *International journal of molecular sciences*, 23(10), 5612.
- Bhavsar, P., Bhawe, M., & Webb, H. K. (2023). Solving the plastic dilemma: the fungal and bacterial biodegradability of polyurethanes. *World journal of microbiology & biotechnology*, 39(5), 122.
- Kim, S. H., Lee, J. W., Kim, J. S., Lee, W., Park, M. S., & Lim, Y. W. (2022). Plastic-inhabiting fungi in marine environments and PCL degradation activity. *Antonie van Leeuwenhoek*, 115(12), 1379–1392.
- Vishnu, S., Rafeeya, S., Kshirod, K. D., Ayaz, M. S., & Kovács, B. (2025). Comprehensive review on enzymatic polymer degradation: A sustainable solution for plastics. *Journal of Agriculture and Food Research*, 20, 101788.
- Ruano Najarro, M. J., & Villagómez Castro, J. C. (2018). Estudio de la degradación de PET por consorcios fúngicos II. *Jóvenes en la Ciencia*, 4(1), 1076–1082.
- Silva Rodríguez, A. V. (2019). Caracterización de microorganismos degradadores de PET, Tesis de Licenciatura: QFB, Universidad de Guanajuato.
- Magaña Martínez, J., Cendejas Mares, X. L., Martínez Gallardo, R. A., Aguilera Domínguez, S., Flores Villavicencio, L. L., & Villagómez Castro, J. C. (2022). Caracterización de aislados fúngicos en medio mínimo de Mathur adicionado con diferentes polímeros naturales y sintéticos. *Jóvenes en la Ciencia*, 16.
- Silva Rodríguez, C. S., Flores Villavicencio, L. L., Magaña Martínez, J., Castruita Domínguez, J. P., Ponce Noyola, P., & Villagómez Castro, J. C. (2023). Determinación de la degradación de polímeros plásticos y celulósicos por dos aislados fúngicos en co-cultivo. *Naturaleza y Tecnología*, 10(4).
- Calderón Tinajero, I. M. (2024). Caracterización de la Actividad Celulolítica de un aislado fúngico. Tesis de Licenciatura de Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato.