



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**ANÁLISIS MOLECULAR DE MICROHONGOS ACUÁTICOS EN EL ESTERO DE
PUNTA CARNERO, SANTA ELENA, ECUADOR**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

LIAM ANDRÉ CORONEL CHIRIBOGA

DOCENTE TUTOR:

BLGA. ÁNGELA REYES LAÍNEZ, MSc

LA LIBERTAD

2026



UPSE

UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**ANÁLISIS MOLECULAR DE MICROHONGOS ACUÁTICOS EN EL ESTERO DE
PUNTA CARNERO, SANTA ELENA, ECUADOR**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

LIAM ANDRÉ CORONEL CHIRIBOGA

DOCENTE TUTOR:

BLGA. ÁNGELA REYES LAÍNEZ, MSc

LA LIBERTAD

2026

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “ANÁLISIS MOLECULAR DE MICROHONGOS ACUÁTICOS EN EL ESTERO DE PUNTA CARNERO, SANTA ELENA, ECUADOR”, elaborado por CORONEL CHIRIBOGA LIAM ANDRE, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo/a, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Angela Reyes Lainez', is written over a solid horizontal line.

Blga, Angela Reyes Lainez, M.Sc.

DOCENTE TUTOR

C.I. 0913401014

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista del Trabajo de Integración Curricular, “ANÁLISIS MOLECULAR DE MICROHONGOS ACUÁTICOS EN EL ESTERO DE PUNTA CARNERO, SANTA ELENA, ECUADOR”, elaborado por CORONEL CHIRIBOGA LIAM ANDRE, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo/a, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

Atentamente



Blga. Dadsania Rodriguez Moreira, M.Sc.

DOCENTE DE ÁREA

C.I. 0913042008

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a todas las personas que, de una u otra manera, estuvieron presentes durante el desarrollo de este proyecto y contribuyeron a que pudiera alcanzar esta meta.

A mi familia, por su amor incondicional, comprensión y apoyo constante, quienes fueron mi principal fuente de fortaleza para superar cada desafío presentado a lo largo de mi formación académica.

A mis amigos y compañeros, por su motivación, compañía y palabras de aliento en los momentos de mayor dificultad, así como por compartir conmigo experiencias que enriquecieron este camino.

A mis docentes y tutor de investigación, por su orientación, conocimientos y dedicación, los cuales fueron fundamentales para la realización de este trabajo.

Finalmente, dedico este logro a todas aquellas personas que creyeron en mí, me brindaron su apoyo y estuvieron a mi lado durante este proceso. Su confianza, ayuda y acompañamiento fueron esenciales para culminar con éxito esta investigación.

Liam Andre Coronel Chiriboga

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a la Universidad Estatal Península de Santa Elena y de manera particular a la Facultad Ciencias del Mar por haberme instruido con información profesional e impregnada de valores. A la institución, por brinda a mi disposición sus bibliotecas, recursos y laboratorios, los cuales fueron esenciales para el desarrollo de mi vida académica.

Agradezco profundamente a mi tutora, Bióloga Reyes, por su guía académica, dedicación, paciencia y valiosos conocimientos compartidos durante el desarrollo de esta investigación. Su orientación fue fundamental para fortalecer cada etapa de este trabajo y contribuir a mi formación profesional como futuro biólogo.

A mi familia, por ser mi principal fuente de apoyo, motivación y fortaleza. Gracias por su comprensión, confianza y sacrificio constante, así como por acompañarme en los momentos más desafiantes de este proceso académico. Cada logro alcanzado también les pertenece a ustedes.

Finalmente, a mis amigos y conocidos, quienes compartieron experiencias, conocimientos y palabras de aliento durante esta etapa universitaria. Su apoyo y colaboración contribuyeron significativamente al desarrollo de este proyecto y a mi crecimiento personal y profesional.

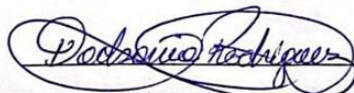
TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **LIAM ANDRE CORONEL CHIRIBOGA** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 13 de agosto del 2026



Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc.
DIRECTOR DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Blga. Dadsania Rodriguez Morerira, M.Sc.
PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blga. Angela Reyes Lainez , M.Sc.
DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blgo. Richard Duque Marín, M. Sc.
DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Lcdo. Pascual Roca Silvestre, M.Sc.
SECRETARIO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

Yo, Liam Andre Coronel Chiriboga, en calidad de autora del presente Trabajo de Integración Curricular, declaro bajo mi palabra de honor que el contenido aquí expuesto es de mi exclusiva autoría. Certifico que los análisis, conclusiones y resultados han sido elaborados íntegramente por mí, sin recurrir a prácticas de plagio ni a información no debidamente citada. El patrimonio intelectual de esta obra corresponde a la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Atentamente



Liam Andre Coronel Chiriboga

C.I. 0931808489

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	12
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PROBLEMÁTICA.....	3
3. JUSTIFICACIÓN.....	4
4. OBJETIVOS.....	5
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	5
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
5. HIPÓTESIS	6
6. MARCO TEÓRICO	7
6.1 Generalidades de los manglares	7
6.1.1. Tipos de manglar.....	7
6.2. Ciclo del nitrógeno en manglares.....	7
6.3. Microorganismos presentes en Manglares	8
6.3.1. Género <i>Aspergillus</i>	8
6.3.2. Género <i>Penicillium</i>	10
6.3.3. Género <i>Fusarium</i>	11
6.3.4. Género <i>Mucor</i>	12
6.3.5. Amplificación del gen ITS2.....	12
7. METODOLOGÍA.....	14
7.1. ÁREA DE ESTUDIO	14
7.1.1. Ubicación.....	15
7.1.2. Tipo de muestreo:	15
7.1.3. Selección del sitio:	15
7.2. FASE DE CAMPO.....	15
7.2.1. Preparación y colocación de cebos	15
7.2.2. Periodo de exposición y monitoreo	16

7.2.3. Recolección de las muestras	17
7.3. FASE DE LABORATORIO	18
7.3.1. Preparación de medios de cultivo	18
7.3.2. Aislamiento de microhongos	18
7.3.3. Extracción y análisis molecular	19
8. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	20
8.1. Aislación y obtención de cultivos axénicos de microhongos acuáticos	20
8.2. Aplicación de técnicas de secuenciación de ADN para identificación de especies fúngicas	22
8.3. Abundancia relativa y composición de los microhongos acuáticos	25
8.4. Abundancia relativa de las especies de microhongos acuáticos detectadas en el estero de Punta Carnero.	26
8.5. Análisis de índices ecológicos	26
8.6 Composición relativa	29
8.7 Curva rango-abundancia de microhongos acuáticos	30
9. DISCUSIONES	31
10. CONCLUSIONES	35
11. RECOMENDACIONES	37
12. BIBLIOGRAFÍAS	38
13. ANEXOS	I

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Diagrama del ciclo del nitrógeno	8
Figura 2 Colonia de <i>Aspergillus terreus</i>	9
Figura 3 Colonia de <i>Penicillium commune</i>	10
Figura 4 Colonia de <i>Fusarium solani</i>	11
Figura 5 Colonia <i>Mucor circinelloides</i>	12
Figura 6. Zona de estudio	14
Figura 7. Punto de colocación de los cebos	15
Figura 8. Ejemplos de cebos naturales	16
Figura 9 Cebo sujetado	16
Figura 10. Recolección y transporte de cebos	18
Figura 11. Crecimiento de colonias fúngicas	21
Figura 12. Porcentaje de lecturas analizadas	23
Figura 13. Abundancia molecular	25
Figura 14 . Abundancia relativa	26

Figura 15. Índices ecológicos	28
Figura 16 . Composición relativa	29
Figura 17 . Curva rango-abundancia	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Registro de parámetros ambientales óptimos.....	16
Tabla 2. bitácora de muestreos	17
Tabla 3. Análisis de resultados ITS2	22
Tabla 4. Taxonomía de lecturas clasificas	24
Tabla 5 . Especies identificadas de la muestra PDA-001.....	27
Tabla 6 Datos secuenciados de las especies	VII
Tabla 7 Abundancia Molecular	VII
Tabla 8 Abundancia relativa	VIII
Tabla 9 Índices ecológicos	IX
Tabla 10 Composición relativa	X
Tabla 11 Curva rango-abundancia.....	X

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Muestreo 1, recolección y colocación de los cebos	I
Anexo 2. Medición de parámetros: salinidad y temperatura	I
Anexo 3. Muestreo 2, observación de crecimiento micelar	II
Anexo 4 . Toma de parámetros: pH y temperatura	II
Anexo 5 . Preparación del Agar Papa Dextrosa (PDA)	III
Anexo 6 . Homogenización del agar hasta su punto de ebullición.....	III
Anexo 7 . LLenando las cajas petri con la mezcla homogenizada	IV
Anexo 8 . Observación de las muestras a microscopio electrónico	IV
Anexo 9 . Fijación de los fragmentos de cebo en los medios de cultivo	V
Anexo 10 . Crecimiento fúngico de la muestra	V
Anexo 11 . Crecimiento micelar de las muestras	VI
Anexo 12 Reporte de secuenciación NGS N: 26061601	XI

RESUMEN

Los microhongos acuáticos constituyen un grupo de microorganismos fundamentales en los ecosistemas estuarinos debido a su participación en los procesos de descomposición de materia orgánica, reciclaje de nutrientes y mantenimiento del equilibrio ecológico. No obstante, en la costa ecuatoriana existen escasos estudios sobre la diversidad y composición de las comunidades fúngicas asociadas a ambientes de manglar. En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo identificar y caracterizar molecularmente los microhongos acuáticos presentes en el estero de Punta Carnero, provincia de Santa Elena, mediante técnicas de aislamiento microbiológico y secuenciación masiva de ADN. Posteriormente, las muestras fueron procesadas mediante aislamiento en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) suplementado con cloruro de sodio, obteniéndose cultivos axénicos para su análisis molecular. La caracterización molecular se realizó mediante secuenciación de la región ITS2, obteniéndose una concentración de ADN de 64 ng/μL, una biblioteca de secuenciación de 126 ng/μL, una calidad de lectura de 81,54 % Q30 y un total de 32 504 lecturas válidas para el análisis taxonómico. Los resultados permitieron identificar una comunidad fúngica dominada principalmente por especies del género *Aspergillus*. La especie más abundante fue *Aspergillus terreus*, con una abundancia relativa del 56,18 %, seguida de *Aspergillus flavus* (19,67 %), *Aspergillus tubingensis* (15,59 %) y *Aspergillus niger* (7,09 %). La aplicación conjunta de métodos de cultivo y herramientas de secuenciación molecular permitió una identificación confiable de la comunidad fúngica, generando información base para futuras investigaciones sobre biodiversidad microbiana, ecología de manglares y potencial biotecnológico de los hongos acuáticos presentes en los ecosistemas costeros del Ecuador.

Palabras clave: Microhongos acuáticos, *Rhizophora mangle*, secuenciación ITS2, *Aspergillus terreus*, diversidad fúngica.

ABSTRACT

*Aquatic microfungi constitute a fundamental group of microorganisms in estuarine ecosystems due to their role in the decomposition of organic matter, nutrient recycling, and maintenance of ecological balance. However, there are few studies on the diversity and composition of fungal communities associated with mangrove environments on the Ecuadorian coast. In this context, the present research aimed to identify and molecularly characterize the aquatic microfungi present in the Punta Carnero estuary, Santa Elena province, using microbiological isolation techniques and massive DNA sequencing. Subsequently, the samples were processed by isolation on Potato Dextrose Agar (PDA) culture medium supplemented with sodium chloride, obtaining axenic cultures for molecular analysis. Molecular characterization was performed by sequencing the ITS2 region, yielding a DNA concentration of 64 ng/μL, a sequencing library of 126 ng/μL, a Q30 read quality of 81.54%, and a total of 32,504 reads valid for taxonomic analysis. The results identified a fungal community dominated primarily by species of the genus *Aspergillus*. The most abundant species was *Aspergillus terreus*, with a relative abundance of 56.18%, followed by *Aspergillus flavus* (19.67%), *Aspergillus tubingensis* (15.59%), and *Aspergillus niger* (7.09%). The combined application of culture methods and molecular sequencing tools allowed for reliable identification of the fungal community, generating baseline information for future research on microbial biodiversity, mangrove ecology, and the biotechnological potential of aquatic fungi present in coastal ecosystems of Ecuador.*

Keywords: Aquatic microfungi, *Rhizophora mangle*, ITS2 sequencing, *Aspergillus terreus*, fungal diversity.

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos eucariotas que, junto con las bacterias, participan activamente en la descomposición y el reciclaje de nutrientes en el entorno. En los ecosistemas acuáticos, cumplen una función esencial al degradar la materia orgánica muerta, lo que permite el retorno de nutrientes indispensables para plantas y otros microorganismos, fortaleciendo así la cadena trófica Grossart (2019). Mediante este proceso, contribuyen a mantener el equilibrio ecológico y favorecen la formación de humus, elemento clave para la fertilidad del suelo y la pureza del agua Garcia (2025).

A nivel internacional según el estudio realizado por Viridiana Magaña Dueñas en la región de España, las muestras aisladas se sembraron en PDA tras 5-7 días de incubación a 25°C, y posteriormente se les extrajo el ADN total. Para el estudio molecular, se secuenciaron diversos marcadores filogenéticos, dependiendo del género en estudio, con el fin de obtener la correcta identificación de los aislados (French, 2019). Los fragmentos obtenidos fueron purificados, secuenciados y analizados mediante programas bioinformáticos para la obtención de secuencias consenso (Seqman). Una vez obtenidas las secuencias, se comparaban contra las de taxones previamente conocidos en las bases de datos del NCBI y CBS, Dueñas (2022).

En Latino América los análisis moleculares de hongos acuáticos han sido esenciales, no solo para lograr su identificación taxonómica, también para prevenir intoxicaciones en la salud humana, un estudio en Boyacá, Colombia se identificaron la presencia de hongos acuáticos en el agua potable gracias a que se analizaron muestras tomadas directamente de la red de distribución, con el fin de evaluar la presencia de hongos patógenos (Aguilera, 2020). Los resultados mostraron la presencia de hongos en los tres municipios de estudio, y levaduras en el municipio de Chiquinquirá. Se identificó la presencia de *Trichoderma sp.* Gómez (2024).

A nivel nacional se han observado especies de hongos acuáticos que pueden ser un posible patógeno para a la fauna local como por ejemplo según Francisca, Hernandez-Tapia y su investigación en el Morro, Guayas-Ecuador; analiza la vulnerabilidad de delfines contra patógenos fúngicos ya que en el área que habitan encontraron hongos acuáticos de la especie *Rhizopus oryzae* que posee un antecedente de infecciones en delfines mulares en cautiverio, sucedido en Europa Hernandez-Tapia (2019).

El área de estudio, ubicada en la provincia de Santa Elena, abarca presiones ambientales relacionadas con actividades turísticas, acuícolas y urbanas, las cuales pueden modificar las condiciones fisicoquímicas del agua, por lo tanto, afectar la riqueza y distribución de los microhongos. La demarcación del presente trabajo se centra en la evaluación de las especies fúngica en puntos estratégicos del estero, considerando variables ambientales relevantes, lo que posibilitara establecer relaciones entre la composición de las comunidades y los factores locales. De esta manera, la investigación no solo generará datos inéditos para el país, sino que también servirá como línea base para futuros programas de monitoreo y conservación de ambientes costeros.

2. PROBLEMÁTICA

Los ecosistemas estuarinos, como el de Punta Carnero en la provincia de Santa Elena, presentan condiciones ambientales variables que pueden influir directamente en la composición y densidad de microorganismos acuáticos. Entre ellos, los microhongos cumplen un papel importante en la descomposición de materia orgánica mediante enzimas (lignina, celulosa, xilano) y en los procesos de reciclaje de nutrientes. Sin embargo, ¿existe una alta diversidad de especies de microhongos acuáticos en punta carnero?

La expansión de tejido micelar de hongos acuáticos por la madera del manglar, por lo general, crece por la corteza externa, debido a sus altos requerimientos de oxígeno, los hongos son esenciales como base ya que condicionan previamente la superficie de la corteza para su posterior descomposición, Raghukumar (1994).

También la presencia de otros microorganismos como las bacterias que actúan de manera conjunta con los hongos, siendo el siguiente eslabón luego de la descomposición inicia por organismos fúngicos, Pawłowska (2024).

Estos factores muestran lo importante que son los microhongos en los ecosistemas estuarinos y nos permite entender los ciclos de descomposición del manglar y su función en estas zonas. En este aspecto es esencial determinar la densidad poblacional de estos organismos ya que con los avances tecnológicos se puede lograr su identificación taxonómica, lo que podría impulsar a la implementación de biotecnologías en la provincia de Santa Elena.

3. JUSTIFICACIÓN

Los microhongos acuáticos son un componente esencial de los ecosistemas estuarinos debido a su papel en la descomposición de la materia orgánica y el reciclaje de nutrientes, procesos esenciales para mantener el equilibrio ecológico de los manglares. A pesar de su importancia, existe poca información sobre la diversidad de especies de microfungos en el estero de Punta Carnero, lo que complica la comprensión de su composición y funciones en este ecosistema.

El presente estudio se basa en la determinación de la diversidad de microhongos acuáticos utilizando herramientas de identificación molecular, que permiten una identificación taxonómica más precisa que los métodos basados únicamente en procesos de caracterización. La aplicación de estos métodos ayudará a obtener información científica confiable sobre la composición de las comunidades fúngicas del estero Punta Carnero, lo que permitirá establecer una línea base para futuros estudios relacionados con la biodiversidad y ecología de estos organismos Raghukumar (1994).

Desde un punto de vista ambiental, el estudio ayudará a ampliar el conocimiento de los microorganismos involucrados en los procesos de degradación de la materia orgánica y reciclaje de nutrientes, y proporcionará información valiosa para comprender la dinámica ecológica de los ecosistemas estuarinos de Santa Elena. Además, los resultados pueden apoyar el desarrollo de estrategias de conservación y monitoreo ambiental en estos ambientes costeros Pawlowska (2024).

Finalmente, la identificación molecular de microhongos acuáticos permitirá reconocer especies con potencial biotecnológico. En este aspecto, la investigación generará información que podrá ser utilizada como base para futuras aplicaciones en biotecnología y para el aprovechamiento sostenible de la biodiversidad fúngica presente en los ecosistemas estuarinos de la provincia de Santa Elena.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la diversidad de microhongos acuáticos presentes en el estero de Punta Carnero mediante cebos orgánicos para su análisis metagenómico.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar y obtener cultivos axénicos de micro-hongos acuáticos a partir de muestras del estero, utilizando medios de cultivo selectivos y enriquecidos (PDA).
- Aplicar técnicas de secuenciación masiva de ADN fúngico para la identificación molecular de las especies.
- Determinar la densidad poblacional de microhongos acuáticos mediante la aplicación de datos estadísticos.

5. HIPÓTESIS

Hi. Los microhongos acuáticos presentes en el estero de Punta Carnero muestran una alta diversidad taxonómica.

6. MARCOTEÓRICO

6.1 Generalidades de los manglares

Los manglares, son ecosistemas costeros, típicos de las zonas tropicales y subtropicales, que presentan una gran riqueza de biodiversidad. Es importante recalcar que existen diferentes tipos de manglares, pero todos ellos tienen una característica común: nacen del contacto entre dos ambientes muy distintos –el terrestre y el marino–, constituyendo así uno de los hábitats más valiosos del planeta.

Son clave para la conservación de diferentes tipos de especies y vegetales que necesitan de estos hábitats para poder crecer y desarrollarse. No solo tienen una función de protección de la vegetación y la fauna, también contribuyen a mitigar los efectos del cambio climático al ser capaces de absorber y almacenar CO₂ en sus raíces (Aguae, 2022).

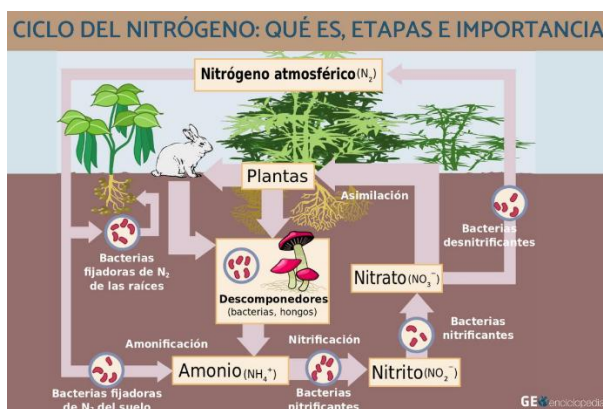
6.1.1. Tipos de manglar

Existen seis especies de manglar en el país, Mangle rojo (*Rhizophora mangle*), Mangle Concha (*Rhizophora harrisonii*), Mangle negro (*Avicennia germinans*), Mangle botón (*Conocarpus erectus*), Mangle blanco (*Laguncularia racemosa*) y Mangle piñuelo (*Pelliciera rhizophorae*) (WWF, 2017).

6.2.Ciclo del nitrógeno en manglares

El ciclo del nitrógeno en los manglares es un proceso complejo dominado por la actividad microbiana donde participan los microhongos, donde abarca la fijación del nitrógeno atmosférico, mineralización de materia orgánica en el suelo, nitrificación (amonio a nitrito y luego nitrato) y desnitrificación, donde las bacterias devuelven el nitrógeno a la atmósfera (Barrios, 2025).

Figura 1 Diagrama del ciclo del nitrógeno



Nota: Las flechas indican el paso del nitrógeno entre los diferentes organismos del ecosistema. Obtenido de Bordin (2025).

6.3. Microorganismos presentes en Manglares

Los hongos uno de microorganismos presentes en estas zonas, actúan como principales descomponedores de materia orgánica, participan en el reciclaje de nutrientes y producen metabolitos secundarios que ayudan a las plantas a soportar el estrés a altas salinidades, según Fathy (2025).

6.3.1. Genero *Aspergillus*

Aspergillus es un hongo filamentoso hialino, saprofito, perteneciente al filo *Ascomycota*. Se encuentra formado por hifas hialinas septadas y puede tener reproducción sexual (con formación de ascosporas en el interior de ascas) y asexual (con formación de conidios).

6.3.1.1. Descripción de la especie *Aspergillus terreus*.

Reino: *Fungi*

Filo: *Ascomycota*

Clase: *Eurotiomycetes*

Orden: *Eurotiales*

Familia: *Aspergillaceae*

Género: *Aspergillus*

Especie: *Aspergillus terreus*

Figura 2 Colonia de *Aspergillus terreus*



Nota: Hongo filamentoso creciendo en un medio de cultivo. Obtenida de lifeder (2009)

Dentro de los metabolitos secundarios producidos por *A. terreus*, destacan dos: lovastatina y terreina. Ambos tienen propiedades bioactivas significativas con aplicaciones en la industria farmacéutica. Lovastatina es un compuesto perteneciente a la clase de las estatinas, fármacos utilizados principalmente para reducir el colesterol. Dicho por Oyarzo (2025).

6.3.2. Género Penicillium

Reino: *Fungi*

Filo: *Ascomycota*

Clase: *Eurotiomycetes*

Orden: *Eurotiales*

Familia: *Aspergillaceae*

Género: *Penicillium*

Especie: *Penicillium commune*

Figura 3 *Colonia de Penicillium commune*



Nota: Crecimiento del organismo en medio de cultivo, dado por Inaturalist (2026)

Es una especie de hongo que se encuentra comúnmente en diversos alimentos y es conocido por su papel en el deterioro de los mismos. Se caracteriza por crecer en sustratos específicos y puede producir cambios visibles en la apariencia de los alimentos. Dado por Pitt (2014).

6.3.3. Género Fusarium

Reino: *Fungi*

Filo: *Ascomycota*

Subfilo: *Pezizomycotina*

Clase: *Sordariomycetes*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Nectriaceae*

Género: *Fusarium*

Especie: *Fusarium solani*

Figura 4 Colonia de *Fusarium solani*



Nota: Muestras de crecimiento de la especie, dado por shutterstock (2021)

Esta especie es reportada como un organismo endófito. Ecológicamente se desenvuelve en el ambiente degradando materia orgánica. A su vez, es reconocido como un fitopatógeno importante causando infecciones en humanos bajo determinadas condiciones.

6.3.4. Genero Mucor

Reino: *Fungi*

Filo: *Mucoromycota*

Clase: *Mucoromycetes*

Orden: *Mucorales*

Familia: *Mucoraceae*

Género: *Mucor*

Especie: *Mucor circinelloides*

Figura 5 *Colonia Mucor circinelloides*



Nota: Adaptado *Mucor circinelloides*, Lubbenhusen, 2003, <https://microchemlab.com/microorganisms/mucor-circinelloides/>, (Lubbenhusen, 2003).

Son hongos filamentosos que presentan hifas cenocíticas y esporangios que liberan esporas asexuales. Se distribuyen por el suelo, materia vegetal en descomposición y residuos orgánicos. Efectúan un rol importante como descomponedores de materia orgánica, no obstante, es un reconocido patógeno oportunista pudiendo causar mucormicosis en humanos y animales, según Fathy (2025).

6.3.5. Amplificación del gen ITS2

La región Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2) forma parte del ADN ribosomal nuclear y se localiza entre los genes 5.8S y 28S. Debido a su elevada variabilidad interespecífica y a la presencia de regiones conservadas que facilitan el diseño de cebadores universales, ITS2 se ha consolidado como uno de los marcadores moleculares más utilizados

para la identificación taxonómica y los estudios filogenéticos en plantas, hongos y otros eucariotas (Ihrmark et al., 2024).

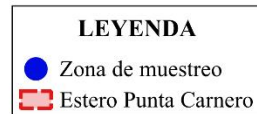
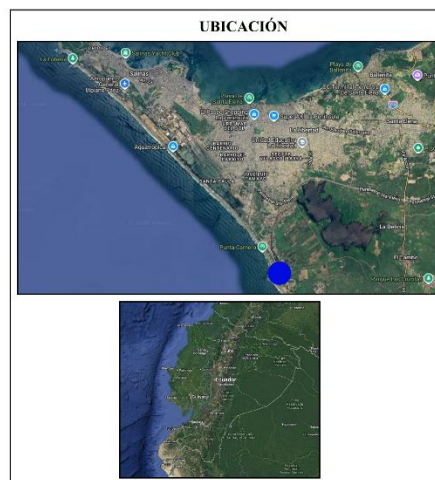
La amplificación de esta región mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR) permite obtener fragmentos de ADN adecuados para su posterior secuenciación y comparación con bases de datos genéticos. Diversos han demostrado que ITS2 posee una alta capacidad de discriminación entre especies estrechamente relacionadas, superando en muchos casos a otros códigos de barras moleculares utilizados en sistemática vegetal y microbiología molecular (Yao et al., 2010). De manera similar, la facilidad relativa para amplificar y secuenciar esta región ha hecho que sea un marcador estándar en estudios de biodiversidad, autenticación de especies y análisis ecológico (Bhat et al., 2024). Además, la región ITS2 ha resultado especialmente útil para la identificación rápida de hongos y en la delimitación de especies mediante análisis filogenéticos y morfometría molecular, convirtiéndose en una herramienta clave para investigaciones taxonómicas y ambientales.

7. METODOLOGÍA

7.1.ÁREA DE ESTUDIO

La zona de estudio, como se muestra en la figura, incluye el remante de manglar de punta carnero cuyas coordenadas son (2.290065°S, 80.912048°W) (Figura 6)

Figura 6.*Zona de estudio*



- 7.1.1. Ubicación: El estero Punta Carnero está ubicada en la parroquia José Luis Tamayo del cantón Salinas.
- 7.1.2. Tipo de muestreo: Aplicado
- 7.1.3. Selección del sitio: Se escogió un área de muestreo en específico para la colocación de los cebos (figura 7). De acuerdo a la metodología de (Panchana, 2009).

Figura 7. Punto de colocación de los cebos



7.2. FASE DE CAMPO

7.2.1. Preparación y colocación de cebos

1. Se seleccionaron ramas caídas de *Rhizophora mangle*, cortadas en segmentos de 15 cm de largo. (figura 8)

Figura 8.*Ejemplos de cebos naturales*



2. Sujetar los cebos con hilo o cuerda de nylon y que este en contacto con el agua (figura 9)

Figura 9 *Cebo sujetado*



7.2.2. Periodo de exposición y monitoreo

1. Mantener los cebos sumergidos durante un periodo de 30 días, revisándolos semanalmente para verificar su integridad.
2. Registrar parámetros ambientales: Temperatura, pH, salinidad (Tabla 1).

Tabla 1.*Registro de parámetros ambientales óptimos*

Parámetros ambientales	Rango optimo
pH	8.40
Temperatura	33.9°C
Salinidad	7667 ppm

7.2.3. Recolección de las muestras

Conforme a la metodología empleada por (Panchana, 2009), como esta previa a la presentación, se realizaron 4 muestreos para este estudio en el mes de mayo, coincidiendo es con la transición de una época lluviosa (invierno) a una época seca (verano) (Tabla 2).

Tabla 2.*Bitácora de muestreos*

<u>PERIDOS DE MUESTREO</u>	
<u>Muestreo 1</u>	
<u>Fecha</u>	<u>9 de mayo</u>
<u>Hora de inicio</u>	<u>12:00 pm</u>
<u>Hora final</u>	<u>14:00 pm</u>
<u>Muestreo 2</u>	
<u>Fecha</u>	<u>16 de mayo</u>
<u>Hora de inicio</u>	<u>9:30 am</u>
<u>Hora final</u>	<u>12:00 pm</u>
<u>Muestreo 3</u>	
<u>Fecha</u>	<u>21 de mayo</u>
<u>Hora de inicio</u>	<u>13:00 pm</u>
<u>Hora final</u>	<u>15:00 pm</u>
<u>Muestreo 4</u>	
<u>Fecha</u>	<u>3 julio</u>
<u>Hora de inicio</u>	<u>12:00 pm</u>
<u>Hora final</u>	<u>13:00 pm</u>

1. Se extrajo los cebos con guantes estériles.
2. Colocar cada segmento en fundas ziploc, etiquetados con fecha y hora.
3. Añadir una pequeña cantidad de agua del estero para mantener humedad. (figura 10)

Figura 10. *Recolección y transporte de cebos*



7.3. FASE DE LABORATORIO

7.3.1. Preparación de medios de cultivo

1. Preparar Agar Papa Dextrosa (PDA):

- Se vertió agar PDA (13 gramos) en 200ml de agua destilada posteriormente se agregó 4.5 gramos de NaCl (Cloruro de sodio).

$$\frac{65g}{x} \times \frac{1000ml}{200ml} = \frac{65g \times 200ml}{1000ml} = 13g$$

- Para disolver la muestra se calentó en una estufa durante 30 min hasta que la mezcla llegara su punto de ebullición.
- Por consiguiente, se coloca mezcla homogenizada en la autoclave a 121°C durante 15 min.
- Mantener la solución caliente, adicionar 0.5 gramos del antibiótico Penicilina y dispensar en cajas Petri estériles (anexo...) (word, 2020).

7.3.2. Aislamiento de microhongos

- Con pinzas y bisturí estériles, cortar fragmentos pequeños de los cebos (2-3cm).

- Colocarlos sobre placas Petri, presionando ligeramente para asegurar contacto durante 15 a 30 minutos.
- Incubar a 25–28 °C por 48 horas en cámara o incubadora, y luego sellar con Parafilm.
- Observar crecimiento micelial (Delgado Álvarez, 2017).

7.3.3. Extracción y análisis molecular

7.3.3.1. Laboratorio.

Cuando se requiera, el material genético se extrae de la muestra recibida utilizando el método basado en columnas. La calidad y la cantidad del material genético se realiza mediante los métodos de gel de electroforesis y cuantificación fluorométrica respectivamente. Con el material genético cualificado se procede a la amplificación de la región de interés que se especifica en el reporte, la unión de adaptadores a ambos lados de este o estos fragmentos generados, mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa o PCR. Después de cada proceso de amplificación se realiza una limpieza de los fragmentos deseados mediante el método basado en perlas. La calidad y la cantidad de las librerías preparadas se realiza mediante los métodos de gel de electroforesis y cuantificación fluorométrica respectivamente. Una vez cualificadas las librerías están son secuenciadas usando el método de secuenciación por síntesis de Illumina usando lecturas PE: 250x2. Los análisis primarios de transformación de imágenes en secuencias genéticas o llamado de variantes se realizan en el mismo instrumento bajo el software de propiedad de la misma marca, generando los archivos BCL, como producto final (Illumina I. , 2021).

7.3.3.2. Bioinformática.

Los archivos Fastq, son sometidos a un proceso de calidad y filtrado para garantizar la clasificación taxonómica, Para la clasificación taxonómica se utiliza una implementación de un algoritmo de alto rendimiento del clasificador Ribosomal Database Project (RDP) descrito en Wang Q. et al et al (<http://dx.doi.org/10.1128%2FAEM.00062-07>) La base de datos utilizada para fungi es UNITE Fungal ITS, basada en un conjunto de archivos FASTA de: <https://doi.org/10.15156/BIO/587475>. UNITE general FASTA release. Version 01.12.2017. UNITE Community (Illumina, 2024).

8. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

8.1. Aislación y obtención de cultivos axénicos de microhongos acuáticos

Durante el mes de mayo se realizó 4 monitoreos en la zona del estero de punta carnero, en donde se recolectaron 2 cebos los cuales tuvieron mayor crecimiento micelar en sus cortezas externas.

Por consiguiente, se midieron parámetros ambientales contribuyendo a las condiciones físico-químicas del hábitat. Los valores registrados correspondieron un rango de temperatura (34,7°C-32.1°C) estos indican un entorno bastante cálido, lo que puede estimular su metabolismo, las fluctuaciones detectadas en la zona de muestreo sugieren una temperatura relativamente estable. Con respecto, a la Salinidad (7778 ppm- 7556 ppm), indica concentraciones elevadas, típico de áreas estuarinas de transición de agua dulce y salinas, esto constituye un factor determinante dado que no todos los organismos pueden soportar altas concentraciones salinas. El pH registrado oscila entre (8.42-8.32) que indica un ambiente ligeramente alcalino lo que puede afectar la disponibilidad de nutrientes y el crecimiento de los hongos acuáticos, por tanto, el pH es un indicador significativo para entender la composición fúngica de las especies adaptadas al ambiente.

Se observó que el crecimiento micelar no fue uniforme en todos los aislamientos de las cajas Petri, lo que da indicios de diferentes estructuras morfológicas entre los microhongos obtenidos. Algunos aislamientos presentaron un desarrollo más acelerado con presencia de colonias con texturas algodonosas o filamentosas, mientras que otros presentaron un crecimiento más pausado con morfología distinta. Esta variabilidad es relevante, ya que demuestra la diversidad biológica presente en la muestra estudiada sugiriendo que es el estero tiene una comunidad fúngica variada. (figura 11).

Figura 11.*Crecimiento de colonias fúngicas*



Con lo que respecta a la interpretación de estos resultados, se puede afirmar que usar medios como PDA ayuda encontrar y aislar microhongos acuáticos presentes en el estero. La purificación de las colonias proporcionando de material biológico sin contaminación, apto para análisis posterior.

8.2. Aplicación de técnicas de secuenciación de ADN para identificación de especies fúngicas

Los resultados de la muestra PDA-001 indicó una extracción de ADN de buena calidad, con una concentración inicial de **64 ng/μL** de ADN no degradado. Asimismo, la biblioteca de secuenciación alcanzo una concentración de **126 ng/μL** y un tamaño promedio de 500 pb, valores adecuados para el proceso de secuenciación.

Respecto a la calidad de la secuenciación, se obtuvo **81,54%** de bases **Q30**, superando el criterio mínimo de aceptación establecido (>70%). Además, se generaron 32 504 lecturas lo que afirma una cobertura suficiente para la identificación molecular de las especies fúngicas presentes en el análisis de la región ITS2. (tabla 3)

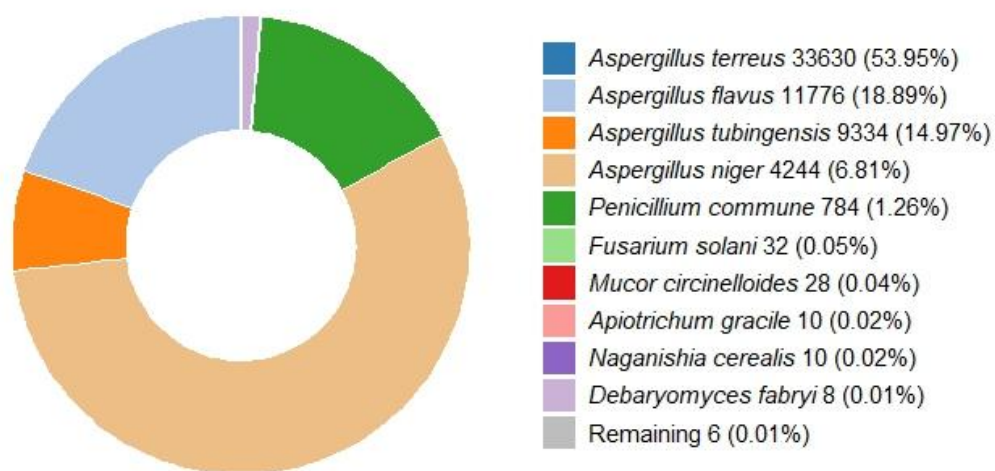
Tabla 3. *Análisis de resultados ITS2*

RESULTADOS							
Muestra ID	Nombre	Muestra		Librería		Secuencia	
		Conc. (ng/μL)	Integridad (pb) > 1500 pb	Conc. (ng/μL)	Tamaño	Q30 > 70%	Lecturas
26061601-001-ITS	PDA-001	64	DETECTADO	126	500	81.54	32 504

Notas: Amplificación del gen ITS2 regiones ITS86F: GTGAATCATCGAATCTTTGAA a ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC

La figura 12 muestra las especies identificadas de microhongos por el medio de secuenciación de ADN. Destaca el dominio de *Aspergillus* como el taxón más prevalente en el medio, con menor abundancia se registró otros géneros con baja representación porcentual. Por consiguiente, las especies restantes contiene una agrupación de taxones que no se lograron identificar.

Figura 12. Porcentaje de lecturas analizadas



La clasificación taxonómica obtenida mediante secuenciación ITS2 evidenció que la comunidad fúngica analizada estuvo compuesta exclusivamente por organismos pertenecientes al reino *Fungi*, alcanzando un total de 62.340 lecturas. La composición específica mostró una clara dominancia del género *Aspergillus*, siendo *Aspergillus terreus* la especie más abundante con 33.630 lecturas, seguida por *A. flavus* (11.776), *A. tubingensis* (9.334) y *A. niger* (4.244). En contraste, *Penicillium commune* presentó únicamente 784 lecturas. Estos resultados indican una estructura comunitaria caracterizada por una marcada dominancia de pocas especies altamente adaptadas a las condiciones ambientales del estero, lo que sugiere que los procesos de descomposición de materia orgánica y reciclaje de nutrientes están siendo realizados principalmente por especies del género *Aspergillus* (tabla 4)

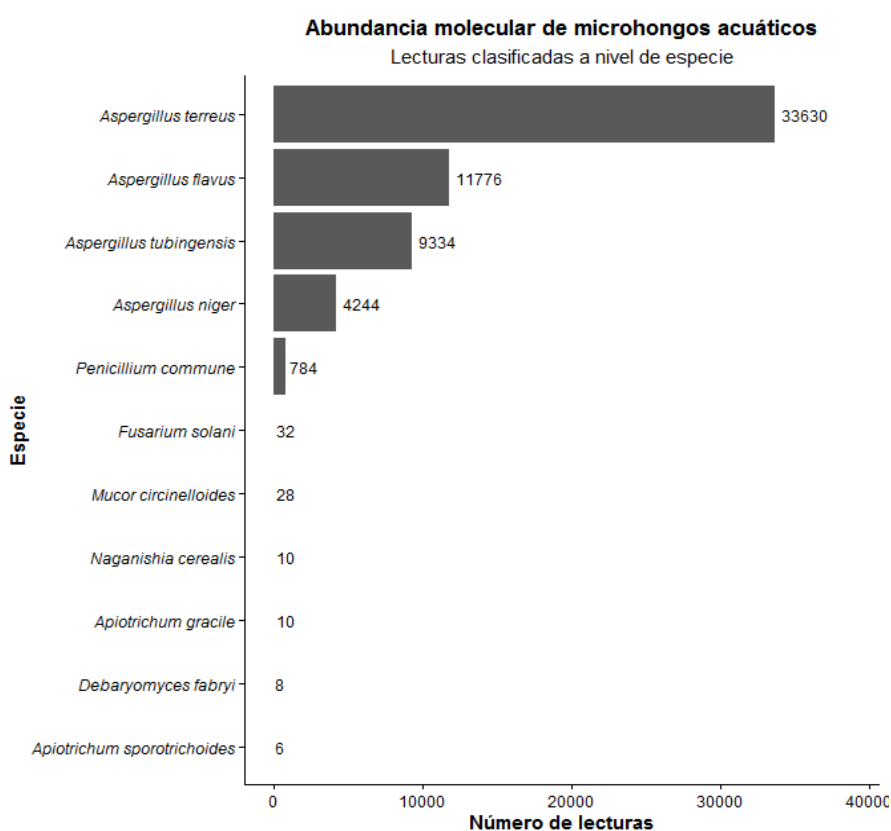
Tabla 4. *Taxonomía de lecturas clasificadas*



8.3. Abundancia relativa y composición de los microhongos acuáticos

La secuenciación registrada en la figura 13 representa el número de lecturas asignadas a cada especie. Se puede detectar un mayor número de lecturas respecto a otras, señalando diferencia en su representación dentro de la comunidad fúngica analizada.

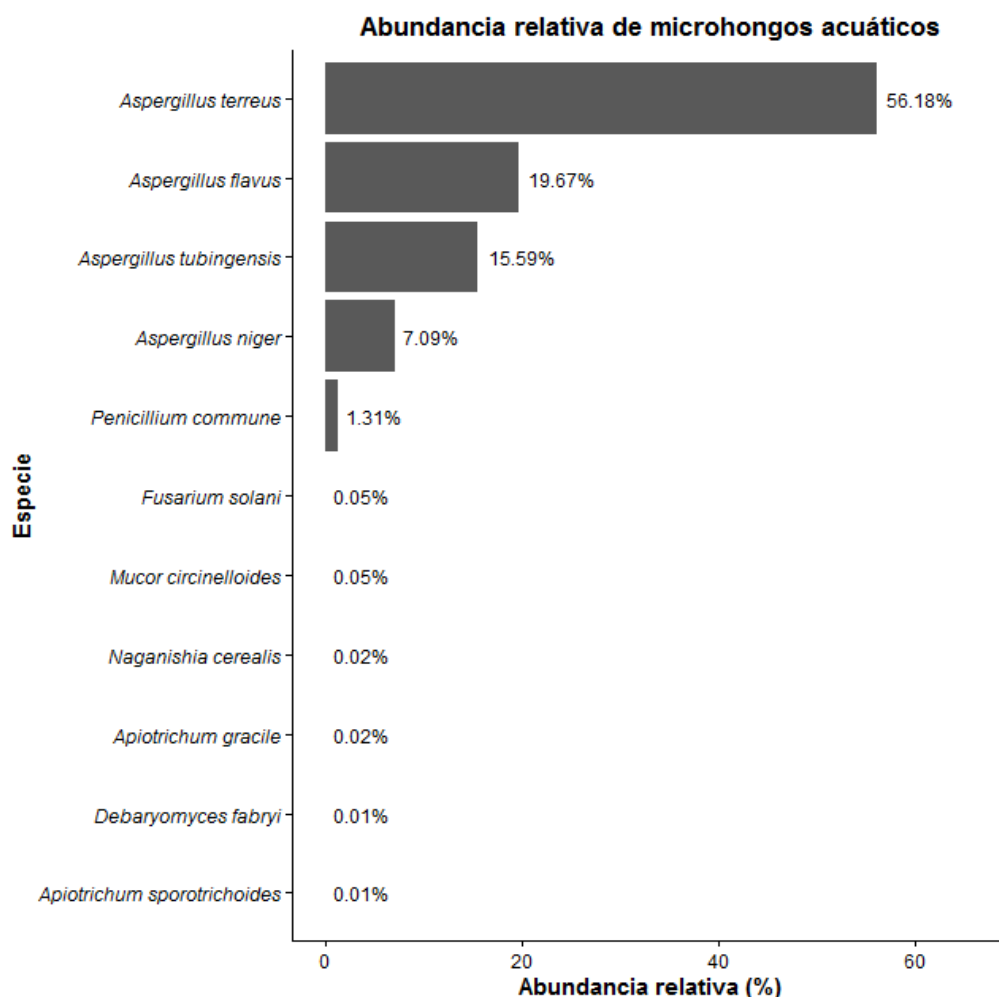
Figura 13. *Abundancia molecular*



8.4. Abundancia relativa de las especies de microhongos acuáticos detectadas en el estero de Punta Carnero.

La visualización de la figura 14 permite comparar la proporción que ocupa cada especie dentro de la comunidad fúngica de la zona de muestreo, contribuyendo a la identificación de especies predominantes.

Figura 14 .Abundancia relativa



8.5. Análisis de índices ecológicos

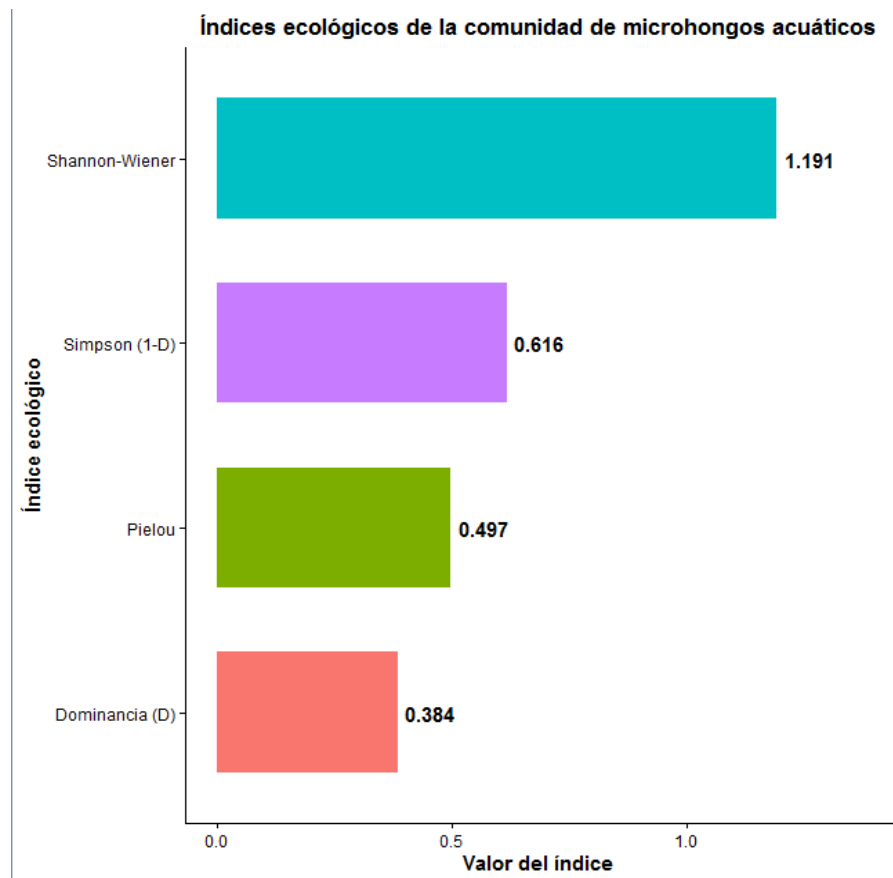
La tabla 4 con los índices ecológicos calculados indica que Shannon-Weaver muestra resultados de $H'=1.191$ lo que sugiere que hay una diversidad moderada conformada por varias especies, aunque su distribución no es completamente uniforme. A la vez, el índice de

Simpson revela datos de $1-D = 0.616$ afirma una diversidad moderada y recalca la probabilidad intermedia que dos lecturas seleccionadas al azar sean de especies diferentes. Mientras el índice de Pielou señala valores de $J' = 0,497$ evidencia una baja uniformidad en la distribución de la equidad entre las especies identificadas, lo que refleja que algunas especies presentan una mayor representación que otras. Por último, el índice de Dominancia presento un valor $D = 0,384$ lo que muestra una dominancia moderada, este resultado sugiere que la comunidad presenta una distribución de abundancias relativamente homogénea, sin que una sola especie predomine de forma significativa sobre las demás (Figura 15).

Tabla 5 .Especies identificadas de la muestra PDA-001

	Organismo	Rango	Tax_ID	Porcentaje_clasificado	Porcentaje_total	Reads	Reads_con_descendientes	Abundancia_relativa
1	Aspergillus terreus	species	33178	53.95	51.73	33630	33630	56.17921219
2	Aspergillus flavus	species	5059	18.89	18.11	11776	11776	19.67191206
3	Aspergillus tubingensis	species	5068	14.97	14.36	9334	9334	15.59252948
4	Aspergillus niger	species	5061	6.81	6.53	4244	4244	7.08963950
5	Penicillium commune	species	36653	1.26	1.21	784	784	1.30967893
6	Fusarium solani	species	169388	0.05	0.05	32	32	0.05345628
7	Mucor circinelloides	species	36080	0.04	0.04	28	28	0.04677425
8	Apiotrichum gracile	species	82516	0.02	0.02	10	10	0.01670509
9	Naganishia cerealis	species	610337	0.02	0.02	10	10	0.01670509
10	Debaryomyces fabryi	species	58627	0.01	0.01	8	8	0.01336407
11	Apiotrichum sporotrichoides	species	82526	0.01	0.01	6	6	0.01002305

Figura 15. *Índices ecológicos*



8.6 Composición relativa

Resumen visual en porcentaje de la comunidad molecular correspondiente a los taxones dominantes y cuánto representan las especies raras agrupadas en la categoría de “Otros”. Esta demostración facilita la visualización de la estructura general de la comunidad fúngica (Figura 16).

Figura 16 .Composición relativa

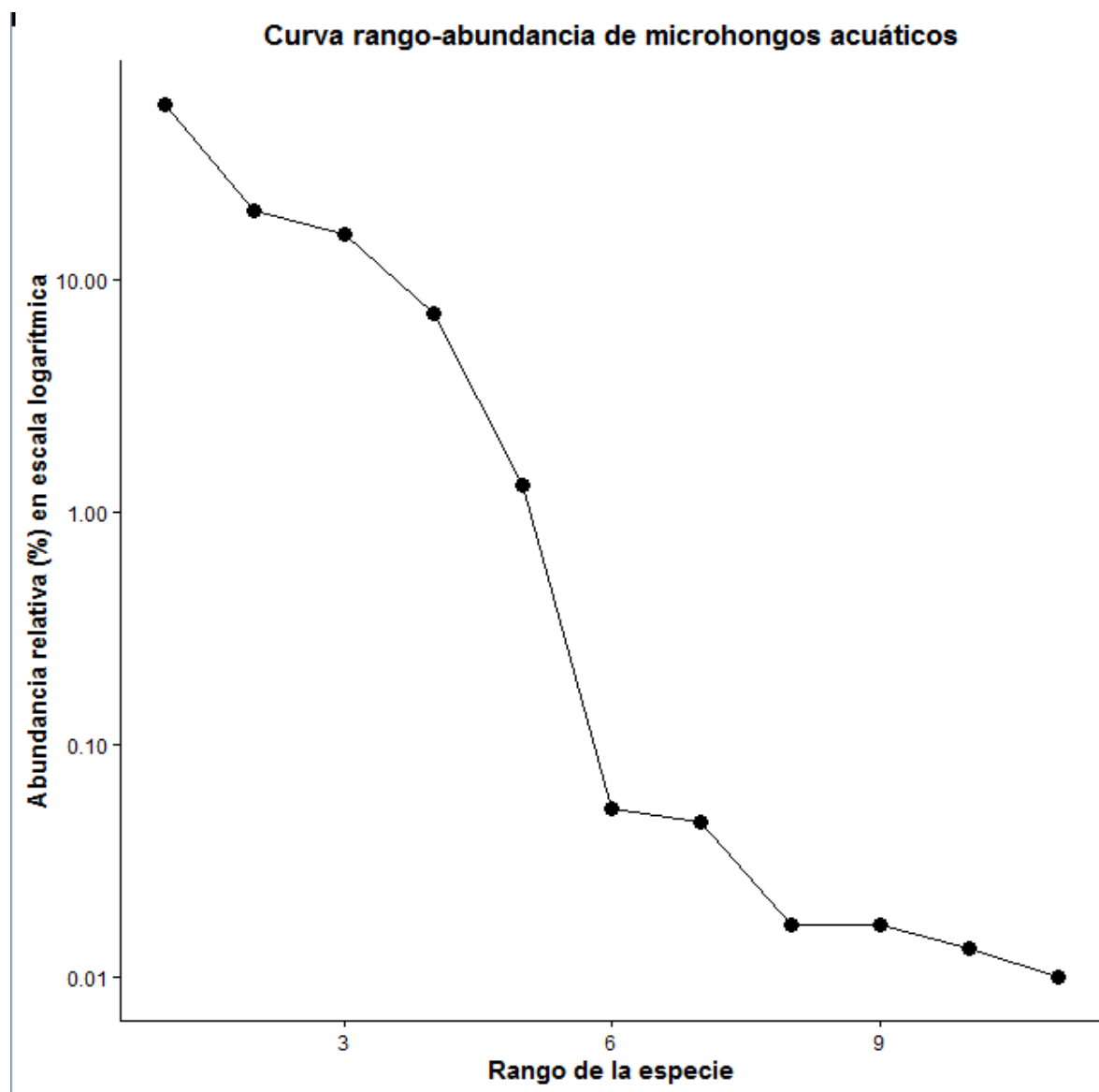
Composición relativa de microhongos acuáticos



8.7 Curva rango-abundancia de microhongos acuáticos

La pendiente de la curva permite observar la distribución de las abundancias dentro de la comunidad, lo cual muestra, una caída muy pronunciada que se interpreta como una o pocas especies concentran casi todas las lecturas (Figura 17).

Figura 17. Curva rango-abundancia



9. DISCUSIONES

La presente investigación facilitó la identificación molecular de las comunidades de microhongos presentes en el estero de Punta Carnero, utilizando cebos de *Rhizophora mangle*, aislamiento en medios PDA y secuenciación de la región ITS2. Los resultados mostraron que las condiciones del estero incentivan el establecimiento de una comunidad fúngica, donde las especies más predominantes son las del género *Aspergillus*. Cuyos parámetros ambientales indicaron temperaturas entre 32,1 – 34,7 °C, salinidad que osciló entre 7556 ppm – 7778 ppm y los niveles de pH entre 8,32 – 8,42, factores que demuestran un entorno cálido, ligeramente alcalino y con influencia de agua de mar. Desde la perspectiva de Grossart (2019), se menciona que los microhongos son esenciales para el proceso de reciclaje de nutrientes y la descomposición de materia orgánica, adaptándose a cambios ambientales significativos. De la misma manera, Bonito (2024) expresa que los hongos relacionados con estos ecosistemas estuarinos tienen una notable capacidad para colonizar materiales y sostener los procesos ecológicos vitales en estas zonas.

El crecimiento micelial observado sobre los cebos confirmó la efectividad de la metodología utilizada para promover la colonización de especies fúngicas acuáticas. Los cebos seleccionados mostraron un notable crecimiento en la corteza externa, un rasgo que coincide con lo descrito por (Álvarez, 2019) donde describe que estos organismos suelen desarrollarse inicialmente en estas zonas superficiales de la madera. Además, las diferencias observadas en la tasa de crecimiento, color y textura de las colonias cultivadas en PDA indican la presencia de varios grupos taxonómicos en la comunidad estudiada. Estas variaciones morfológicas concuerdan con lo reportado por Alpuche-González (2025), quien indicó que los aislados del ambiente natural muestran una amplia diversidad fenotípica. Además, la obtención de cultivos axénicos confirmó que el PDA suplementado con NaCl promueve su desarrollo.

La muestra denominada PDA-001 mostró una concentración inicial de ADN de 64 ng/μL, una biblioteca de secuenciación de 126 ng/μL y un tamaño promedio de 500 pb. La calidad de la secuencia alcanzó el 81,54% de bases Q30, superando el umbral recomendado para estudios metagenómicos. Se obtuvieron 32.504 lecturas, lo que permitió la clasificación taxonómica de los organismos presentes. Estos resultados indican que los procedimientos de

extracción, amplificación y secuenciación fueron suficientes para garantizar la validez de los análisis posteriores. Según Alpuche-González (2025), la secuenciación de regiones ITS es actualmente el método más importante para la identificación molecular de hongos debido a su alta resolución. Por otro lado, Bonito (2024) destaca que los métodos de secuenciación ambiental han revolucionado el estudio de los hongos acuáticos, ya que permiten identificar organismos que no pueden cultivarse mediante métodos convencionales, y así ampliar el conocimiento de la diversidad de hongos en el medio natural.

La clasificación taxonómica obtenida mediante secuenciación mostró una comunidad dominada por especies del género *Aspergillus*. En la composición observada, *Aspergillus terreus* destacó como la especie más común, seguida de *A. flavus*, *A. tubingensis* y *A. niger*. Este patrón es consistente con varios estudios realizados en ambientes costeros y marinos, donde las especies de *Aspergillus* a menudo se identifican como los elementos más importantes del microbiota debido a su capacidad para soportar duras condiciones de salinidad, temperatura y nutrientes.

Bonito (2024) señala que las especies de *Aspergillus* y *Penicillium* son algunas de las más comunes en asociaciones con macroalgas y sustratos costeros, gracias a su habilidad para descomponer compuestos complejos que provienen de la materia orgánica vegetal. De igual forma, (Ricardo, 2020) indica que los hongos saprófitos juegan un papel crucial en la descomposición inicial de restos de plantas, lo que luego favorece el trabajo de bacterias y otros microorganismos en los ciclos de biogeoquímica. Este comportamiento ecológico podría justificar la alta frecuencia de especies de *Aspergillus* encontradas en los cebos de *Rhizophora mangle* utilizados durante la investigación.

La distribución de abundancia observada reveló que *Aspergillus terreus* constituyó cerca del 56,18 % de la totalidad de la comunidad fúngica identificada, mientras que *A. flavus* y *A. tubingensis* alcanzaron respectivas proporciones del 19,67 % y 15,59 %. Estas tres especies, al unirse, acumularon más del 90 % de las lecturas obtenidas, lo que indica una notable disparidad en la distribución de abundancias. Por otro lado, especies como *Fusarium solani*, *Mucor circinelloides*, *Debaryomyces fabryi*, *Naganishia cerealis*, *Apiotrichum gracile* y *Apiotrichum sporotrichoides* mostraron porcentajes mucho más bajos. La coexistencia de especies prevalentes y aquellas de escasa abundancia concuerda con lo que

menciona Bonito (2024), quien indica que las comunidades fúngicas acuáticas tienden a tener estructuras muy jerárquicas donde unos pocos taxones reúnen la mayoría de las secuencias detectadas.

Los índices ecológicos calculados permitieron corroborar la estructura comunitaria observada en los análisis de abundancia. El índice de diversidad de Shannon-Weaver ($H' = 1,191$) evidenció una diversidad moderada, indicando que la comunidad está integrada por varias especies, aunque con diferencias marcadas en su representatividad. Este resultado coincide con la detección de numerosos taxones mediante secuenciación molecular y con el claro predominio de *Aspergillus terreus*. De manera complementaria, el índice de Simpson ($1-D = 0,616$) reflejó una probabilidad intermedia de seleccionar dos individuos pertenecientes a especies diferentes al azar, lo que confirma la existencia de una diversidad moderada dentro del ecosistema. Sin embargo, el índice de equidad de Pielou ($J' = 0,497$) reveló una distribución poco uniforme de las abundancias, sugiriendo que las especies identificadas no participan de forma equilibrada en la conformación de la comunidad. Del mismo modo, el índice de dominancia ($D = 0,384$) indicó que determinados taxones ejercen una influencia considerable en la composición general del ensamblaje fúngico. Estos resultados guardan concordancia con el gráfico de composición relativa y con la curva de rango-abundancia, cuya marcada pendiente refleja que un grupo reducido de especies concentra la mayor parte de las lecturas obtenidas. De acuerdo con Bonito (2024), este comportamiento es característico de comunidades acuáticas sometidas a presiones ambientales selectivas, donde la coexistencia de numerosos taxones no implica necesariamente una distribución homogénea de sus abundancias.

En conjunto, los resultados obtenidos sugieren que el estero de Punta Carnero alberga una comunidad de microhongos acuáticos con una diversidad taxonómica moderada, en la que destacan especies pertenecientes al género *Aspergillus*. La integración de los diferentes métodos de aislamiento, los análisis moleculares, la evaluación de la abundancia relativa y los índices ecológicos evidencia que la estructura y diversidad de esta comunidad están determinadas tanto por las condiciones ambientales propias del ecosistema estuarino como por la capacidad de ciertos taxones para colonizar y degradar la materia orgánica procedente del manglar. Por lo tanto, la hipótesis formulada es aceptada en parte, ya que se encontró una comunidad que incluye varias especies de microhongos acuáticos; no obstante, la gran

dominancia de *Aspergillus terreus* y otras especies relacionadas afecta la equidad de la comunidad y disminuye el grado de diversidad efectiva en el ecosistema analizado.

10.CONCLUSIONES

- Se logró aislar exitosamente microorganismos fúngicos presentes en el estero de Punta Carnero mediante el uso de cebos de *Rhizophora mangle* y medio de cultivo PDA suplementado con NaCl. De los cebos obtenidos, dos mostraron un crecimiento micelial claro sobre la superficie externa, lo que permitió la recolección de colonias puras para análisis molecular posterior. Las variaciones notadas en la morfología, textura y velocidad de crecimiento de las colonias indicaron la existencia de diversos grupos de microhongos vinculados al ecosistema estuarino. Por otro lado, los aislamientos se desarrollaron en condiciones ambientales con temperaturas entre 32,1 y 34,7 °C, pH de entre 8,32 y 8,42 y salinidades desde 7556 hasta 7778 ppm, lo que evidencia la capacidad de estos organismos para prosperar en ambientes cálidos, ligeramente alcalinos y con influencia marina.
- La aplicación de técnicas de secuenciación dirigidas a la región ITS2 hizo posible la identificación molecular de las especies de microhongos presentes en la muestra analizada. El ADN obtenido presentó una calidad adecuada para el desarrollo del estudio, con una concentración inicial de 64 ng/μL, una concentración de biblioteca de 126 ng/μL y un tamaño promedio de fragmento de 500 pb. Asimismo, el proceso de secuenciación alcanzó un 81,54 % de bases con calidad Q30 y generó un total de 32 504 lecturas válidas, garantizando una asignación taxonómica confiable. Los resultados revelaron una marcada predominancia de especies pertenecientes al género *Aspergillus*, entre ellas *Aspergillus terreus*, *A. flavus*, *A. tubingensis* y *A. niger*. Además, se identificaron otros taxones menos frecuentes, como *Fusarium solani*, *Mucor circinelloides*, *Naganishia cerealis*, *Apiotrichum gracile*, *Apiotrichum sporotrichoides* y *Debaryomyces fabryi*. Estos resultados demuestran la utilidad y precisión de las herramientas moleculares para la caracterización de la diversidad fúngica en ecosistemas estuarinos.
- Los estudios tanto estadísticos como ecológicos evidenciaron que la comunidad de hongos acuáticos en el estero de Punta Carnero está conformada por unas pocas especies dominantes. La proporción de abundancia reveló que *Aspergillus terreus* fue la especie más abundante, representando el 56,18 % de las lecturas, seguida por *Aspergillus flavus* (19,67 %), *Aspergillus tubingensis* (15,59 %) y *Aspergillus niger*

(7,09 %), las cuales en conjunto superan el 98 % de la comunidad identificada. Los índices ecológicos indicaron una diversidad moderada ($H' = 1,191$), una probabilidad media de hallar diferentes especies ($1-D = 0,616$), una baja equidad en la distribución de las abundancias ($J' = 0,497$) y una dominancia media ($D = 0,384$). Además, la curva de rango-abundancia demostró una caída significativa entre los taxones más comunes y los menos frecuentes, confirmando que la comunidad de hongos está mayormente conformada por especies dominantes del género *Aspergillus*.

11.RECOMENDACIONES

- Debido a que la comunidad fúngica estuvo dominada principalmente por *Aspergillus terreus* y presentó una diversidad moderada, se recomienda ampliar el área y la frecuencia de muestreo para determinar si este patrón se mantiene en diferentes sectores y estaciones del año del estero.
- Considerando la elevada abundancia de *Aspergillus terreus*, *A.flavus* y *A. tubingensis*, se recomienda realizar estudios enfocados en su capacidad de degradar materia orgánica y participación en el reciclaje de nutrientes dentro del ecosistema de manglar.
- Dado que los índices ecológicos sugieren la presencia de especies poco representadas y potencialmente no detectadas mediante cultivo, se recomienda incorporar análisis de metagenómica ambiental para obtener una caracterización más completa de la diversidad fúngica del estero.

12.BIBLIOGRAFÍAS

- Aguilera, A. (2020). https://analesranf.com/wp-content/uploads/2021/87_04/8704_01.pdf.
- Alpuche-González, C. (13 de 09 de 2025). <https://resonanciaincientifica.coscyt.mx/ciencia/los-hongos-marinos-y-nuestro-futuro/>.
- Álvarez, X. (2019). https://www.researchgate.net/profile/Xavier-Alvarez-Montero/publication/346554670_NUEVOS_REGISTROS_DE_ASCOMICETOS_MARINOS_MANGLICOLAS_PARA_EL_ECUADOR/links/5fc7001b299bf188d4e8e836/NUEVOS-REGISTROS-DE-ASCOMICETOS-MARINOS-MANGLICOLAS-PARA-EL-ECUADOR.pdf.
- Aquae. (2022). <https://www.fundacionaquae.org/wiki/los-manglares-que-son-tipos-importancia/>.
- Barrios, P. (2025). <https://es.scribd.com/document/959976803/ciclo-del-nitro-gen-y-los-manglares>.
- Bhat. (2024). <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.01.05.574284v1.full>.
- Bonito, G. (2024). *Ecology and Evolution of Algal-Fungal Symbioses*.
- Bordino, J. (2025). <https://ecologiaverde.elperiodico.com/ciclo-del-nitrogeno-que-es-etapas-e-importancia-7161.html>.
- Delgado Álvares, D. (2017). <https://ciencias.ens.uabc.mx/documentos/manual/bio/Manualdepr%C3%A1cticasdeMicolog%C3%ADayL%C3%ADquenes.pdf>.
- Dueñas, V. M. (2022). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/dctes?codigo=320915>.
- Fathy, M. (2025). pdf.sciencedirectassets.com/319229/1-s2.0-S2468227625X00053/1-s2.0-S2468227625005927/main.pdf?X-Amz-Security-Token=IQoJb3JpZ2luX2VjEFQaCXVzLWVhc3QtMSJGMEQCIFnp9DlByXGKFFeEgwQPvOqx%2Fyp8oYqItNleuKaXtfxLAiABHGz47EFAHgk1bz6lvzwf%2BOY77%2BpPhya2mchX1NIT4CqzBQ.
- French, L. C. (19 de 05 de 2024). https://www.fs.usda.gov/nrs/pubs/jrnl/2024/nrs_2024_french_001.pdf?utm_source.
- Garcia, M. (19 de 05 de 2025). https://todomicologia.com/bioindicadores/hongos-como-indicadores-de-calidad-del-agua-en-ecosistemas/?mejora_cpm=1.

- Gómez, R. (30 de 01 de 2024).
<https://repositorio.uniandes.edu.co/entities/publication/0bf6eda4-3e3a-47ef-86f7-86e874aad3b1>.
- goraymi. (2025). <https://www.goraymi.com/es-ec/santa-elena/salinas/playas/playa-punta-carnero-a605440f0>.
- Grossart, H. P. (01 de 01 de 2019).
https://pearl.plymouth.ac.uk/cgi/viewcontent.cgi?params=/context/bms-research/article/1963/&path_info=Grossart_20et_20al_20Nat_20Micro_20Rev.
- Hernandez-Tapia. (05 de 02 de 2019).
<https://www.redalyc.org/journal/5826/582661249001/582661249001.pdf>.
https://www.mycosphere.org/pdf/MYCOSPHERE_11_1_1.pdf?utm_source=chatgpt.com.
 (11 de 1 de 2020).
- Ihrmark. (2024). <https://academic.oup.com/femsec/article/82/3/666/492046>.
- Illumina. (2024). *BaseSpace Sequence Hub 16S Metagenomics app Software Release Notes. Data Sheet*.
- Illumina, I. (2021). En *16S Metagenomic Sequencing Library Preparation. Data Sheet*.
- inaturalist. (21 de 06 de 2026). <https://www.inaturalist.org/taxa/351701-Penicillium-commune>.
- lifeder. (2009). <https://www.lifeder.com/aspergillus-terreus/>.
- Lubbenhusen. (2003). <https://microchemlab.com/microorganisms/mucor-circinelloides/>.
- Medranda, C. (2011). <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/30240>.
- Mycosphere. (11 de 2020).
https://www.mycosphere.org/pdf/MYCOSPHERE_11_1_1.pdf?utm_source=chatgpt.com.
- Oyarzo, P. V. (2025). https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182025000500525&script=sci_arttext.
- Panchana, H. E. (2009).
<https://repositorio.upse.edu.ec/server/api/core/bitstreams/b2779dae-b0ba-4409-be12-928a7484acc7/content>.
- Pawlowska, T. E. (2024). <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11323152/>.
- Pitt, J. I. (2014).
<https://www.sciencedirect.com/science/chapter/referencework/abs/pii/B9780123847300002482>.

- Raghukumar, S. (1994).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022098194901600>.
- Ricardo, T.-C. (2020).
- shutterstock. (2021). https://www.shutterstock.com/es/image-photo/fusarium-solani-fssc-f-petroliphilum-caused-1930847129?dd_referrer=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F.
- word, s. (2020). <https://www.micolegas.com/tutoriales/medio-de-cultivo-pda/>.
- WWF. (2017). <https://www.wwf.org.ec/?307672/El-manglar-un-rbol-areo>.
- Yao. (2010). <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0013102>.

13. ANEXOS

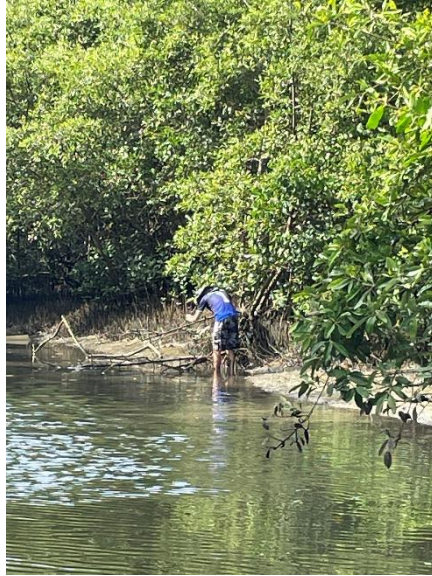
Anexo 1. *Muestreo 1, recolección y colocación de los cebos*



Anexo 2. *Medición de parámetros: salinidad y temperatura*



Anexo 3. *Muestreo 2, observación de crecimiento micelar*



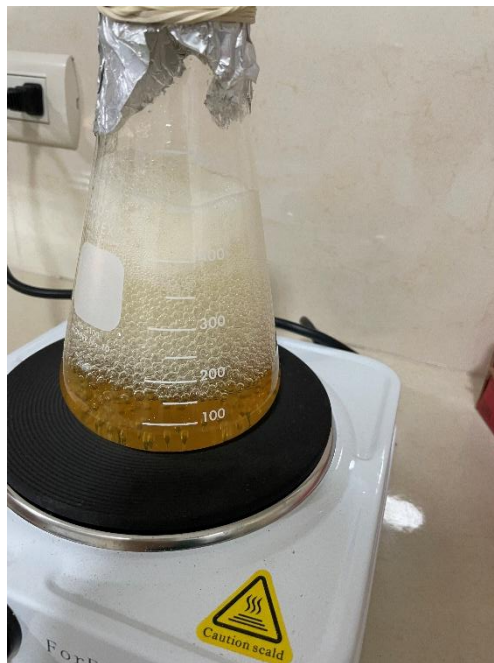
Anexo 4. *Toma de parámetros: pH y temperatura*



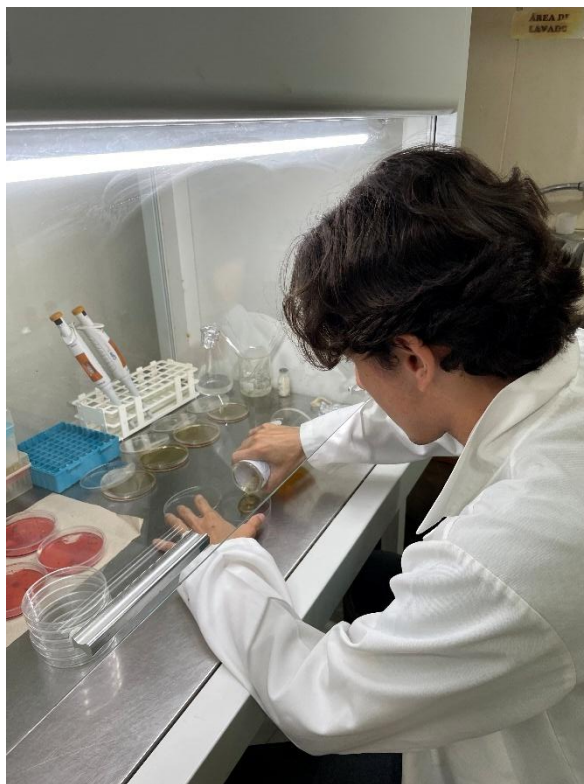
Anexo 5 *.Preparación del Agar Papa Dextrosa (PDA)*



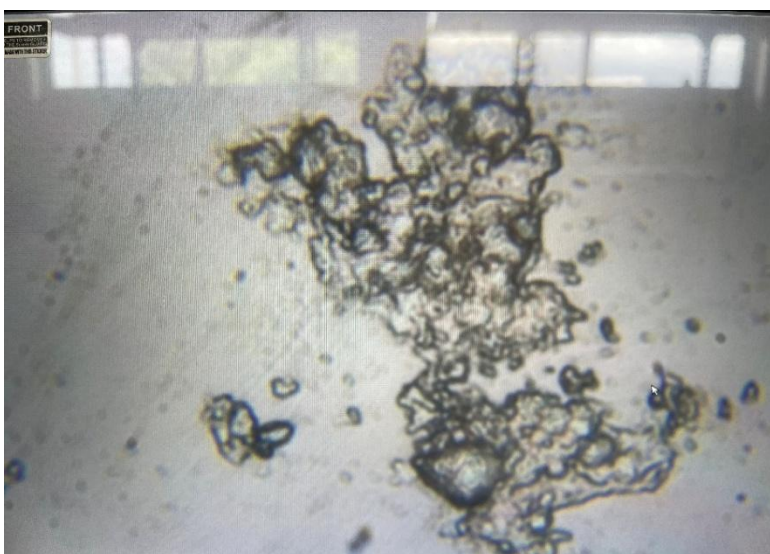
Anexo 6 *.Homogenización del agar hasta su punto de ebullición*



Anexo 7 .*Llenando las cajas petri con la mezcla homogenizada*



Anexo 8 .*Observación de las muestras a microscopio electrónico*



Anexo 9 .Fijación de los fragmentos de cebo en los medios de cultivo



Anexo 10 .Crecimiento fúngico de la muestra



Anexo 11 .Crecimiento micelar de las muestras



Tabla 6 Datos secuenciados de las especies

```
1 rm(list=ls())
2 getwd()
3 setwd("C:/Users/Sebastian/Desktop/")
4 library(readxl)
5 datos <- read_excel("microhongos.xlsx",
6                     sheet = "Sheet1")
7 names(datos)
8 View(datos)
9 names(datos)[1:7] <- c(
10   "Organismo",
11   "Rango",
12   "Tax_ID",
13   "Porcentaje_clasificado",
14   "Porcentaje_total",
15   "Reads",
16   "Reads_con_descendientes"
17 )
18
19 names(datos)
```

Tabla 7 Abundancia Molecular

```
19 names(datos)
20 datos <- datos %>%
21   mutate(
22     Porcentaje_clasificado = as.numeric(
23       str_replace(
24         as.character(Porcentaje_clasificado),
25         ",",
26         "."
27       )
28     ),
29
30     Porcentaje_total = as.numeric(
31       str_replace(
32         as.character(Porcentaje_total),
33         ",",
34         "."
35       )
36     ),
37
```

Tabla 8 *Abundancia relativa*

```
61   arrange(desc(Reads))
62
63   especies <- especies %>%
64     mutate(
65       Abundancia_relativa = Reads / sum(Reads) * 100
66     ) %>%
67     arrange(desc(Reads))
68
69   resumen_general <- data.frame(
70     Reads_totales = sum(especies$Reads),
71     Riqueza_especifica = n_distinct(especies$Organismo),
72     Especie_dominante = especies$Organismo[
73       which.max(especies$Reads)
74     ],
75     Reads_especie_dominante = max(especies$Reads),
76     Porcentaje_dominante = max(especies$Abundancia_relativa)
77   )
```

Tabla 9 *Índices ecológicos*

```
78
79 resumen_general
80
81 abundancias <- especies$Reads
82
83 riqueza <- sum(abundancias > 0)
84
85 shannon <- diversity(
86   abundancias,
87   index = "shannon"
88 )
89
90 simpson <- diversity(
91   abundancias,
92   index = "simpson"
93 )
94
95 dominancia <- 1 - simpson
96
97 pielou <- ifelse(
98   riqueza > 1,
99   shannon / log(riqueza),
100   NA
101 )
102
103 indices <- data.frame(
104   Riqueza = riqueza,
105   Shannon = shannon,
106   Simpson 1 D = simpson.
```

Tabla 10 Composición relativa

```

112
113 ggplot(
114   especies,
115   aes(
116     x = reorder(Organismo, Reads),
117     y = Reads
118   )
119 ) +
120   geom_col() +
121   geom_text(
122     aes(label = Reads),
123     hjust = -0.15,
124     size = 3
125   ) +
126   coord_flip() +
127   expand_limits(
128     y = max(especies$Reads) * 1.15
129   ) +
130   labs(
131     title = "Abundancia molecular de microhongos acuáticos",
132     subtitle = "Lecturas clasificadas a nivel de especie",
133     x = "Especie",
134     y = "Número de lecturas"
135   ) +
136   theme_classic() +
137   theme(
138     plot.title = element_text(
139       face = "bold"

```

Tabla 11 Curva rango-abundancia

```

152 ggplot(
153   especies,
154   aes(
155     x = reorder(Organismo, Reads),
156     y = Reads
157   )
158 ) +
159   geom_col() +
160   geom_text(
161     aes(label = Reads),
162     hjust = -0.15,
163     size = 3
164   ) +
165   coord_flip() +
166   expand_limits(
167     y = max(especies$Reads) * 1.15
168   ) +
169   labs(
170     title = "Abundancia molecular de microhongos acuáticos",
171     subtitle = "Lecturas clasificadas a nivel de especie",
172     x = "Especie",
173     y = "Número de lecturas"
174   ) +
175   theme_classic() +
176   theme(
177     plot.title = element_text(
178       face = "bold",
179       hjust = 0.5
180     ),
181     plot.subtitle = element_text(

```

Anexo 12 Reporte de secuenciación NGS N: 26061601

Orden: **26061601**
 Fecha: 10/07/2026
 Página: 1 de 1



REPORTE DE SECUENCIACIÓN NGS N: 26061601

1. INFORMACIÓN DE CLIENTE:

Cliente: LIAM CORONEL	Ciudad: SANTA ELENA
Institución: UPSE	Muestra: 01
Teléfono: +59398287713	Recepción: 16/06/2026
Correo: liamcch0226@gmail.com	

2. ANALISIS REALIZADO:

El análisis de la secuenciación genética incluye: Amplificación del gen 16s del ARN ribosomal regiones V3-V4: 341F: CCTACGGGNGGCWGCAG a 805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC. Amplificación del gen ITS2 regiones ITS84F: GTGAATCATCGAATCTTGAA a ITS4: TCCTCCGCTTATGATATGC

3. RESULTADOS:

MUESTRA ID	NOMBRE	MUESTRA		LIBRERÍA		SECUENCIACIÓN	
		Conc. (ng/µl)	Integridad (pb) > 1500 pb	Conc. (ng/µl)	Tamaño	Q30 > 70%	Lecturas
26061601-001-ITS	PDA-001	64	DETECTADO	126	500	81.54	32 504

4. INTERPRETACIÓN:

Realizado por:

Luis Ureña
 Ingeniero en Biotecnología
BIOSEQUENCE S.A.S

Validado por:

Paola Astudillo
 Bioquímica Farmacéutica
BIOSEQUENCE S.A.S



☎ 096 002 4672 ✉ atencioncliente@biosequenceec.com 📍 Checoslovaquia y Eloy Alfaro | Quito - Ecuador