INSTITUTO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y NATURALES

PROGRAMA DE POSTGRADO EN BIOCIENCIAS

DIVERSIDAD Y POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE HONGOS ANTÁRTICOS MEDIANTE UN ENFOQUE INTEGRADO, DEPENDIENTE E INDEPENDIENTE DE CULTIVO

MARAHIA ISABEL GUEVARA ROBAYO

Foz de Iguazú, Estado de Paraná
2025

INSTITUTO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y NATURALES

PROGRAMA DE POSTGRADO EN BIOCIENCIAS

DIVERSIDAD Y POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE HONGOS ANTÁRTICOS MEDIANTE UN ENFOQUE INTEGRADO, DEPENDIENTE E INDEPENDIENTE DE CULTIVO

MARAHIA ISABEL GUEVARA ROBAYO

Tesis de maestría presentada en el Programa de Posgrado en Biociencias, del Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y Naturales, de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial para la obtención del título de Maestro en Ciencias.

Asesor: Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passsarini

Foz do Iguazú, Estado de Paraná
2025

MARAHIA ISABEL GUEVARA ROBAYO

DIVERSIDAD Y POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE HONGOS ANTÁRTICOS MEDIANTE UN ENFOQUE INTEGRADO, DEPENDIENTE E INDEPENDIENTE DE CULTIVO

Tesis de maestría presentada en el Programa de Posgrado en Biociencias, del Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y Naturales, de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial para la obtención del título de Maestro en Ciencias.

JUNTA EXAMINADORA

_____

Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini
UNILA
asesor

_____

Dr. Alysson Wagner Fernandes Duarte
UFAL
evaluador

_____

Dra. Valéria Maia de Oliveira
UNICAMP
evaluadora

Foz de Iguazú, Estado de Paraná, 09 de octubre de 2025.

Catalogação elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação
Catalogação de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - CENTRAL

G939
Guevara Robayo, Marahia Isabel.
Diversidad y potencial biotecnológico de hongos antárticos mediante un enfoque integrado, dependiente e independiente de cultivo / Marahia Isabel Guevara Robayo. - Foz do Iguaçu, 2025.
116 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de ciências da Vida e da Natureza, Programa de Pós-Graduação em Biociências. Foz do Iguaçu - PR, 2025.
Orientador: Michel Rodrigo Zambrano Passarini.

1. Biotecnologia - Bioprospecção. 2. Fungos - Fungos antárticos. 3. Enzimas de fungos. 4. Bioinformática - Metagenômica. 5. Fungos - Diversidade. I. Passarini, Michel Rodrigo Zambrano. II. Título.

CDU 60:582.28(1-923)

Dedico este trabajo a Dios, a mis padres Melva y Eduardo, a mis abuelitos Chavi y Luchito que siempre, me motivaron a seguir estudiando y mejorando profesionalmente.

Y a mí misma, esa Marahia pequeña que sentía mucha curiosidad por la naturaleza y soñaba con ser científica.

AGRADECIMENTOS

A Dios, por todas las bendiciones dadas, por darme fuerza y esperanza en los momentos más difíciles. Gracias por tu infinita bondad.

A mi familia, especialmente a mis padres que siempre me han apoyado para alcanzar mis sueños, recuerdo cada gesto de amor y cuidado, cada palabra de aliento, siempre al pendiente de que yo estuviera bien aún en la distancia. Gracias por enseñarme el sentido de la responsabilidad y la excelencia, este logro también es suyo. A mis abuelitos Chavi y Luchito, por ser ejemplo de trabajo constante y superación. Gracias Chavelita por siempre motivarme a seguir preparándome profesionalmente. A mis hermanas Pamela y Margarita cómplices de toda la vida, son un abrigo en el alma, gracias por su apoyo y cariño.

A mis tíos Jaime y Jenny, que me motivaron a aplicar al *Mestrado* y se emocionaron tanto como yo cuando fui aceptada en el PPG-BC.

A todos los que me acompañaron a transitar este camino. A la familia que hice aquí en Foz, a Julián A. el planificador de mil actividades y aventuras, gracias por compartir tu linda energía con nosotros. A Julián G. que apareció el día menos pensado y desde ese momento hemos compartidos momentos únicos. Gracias por ser calma en un mundo que va a prisa. Gracias las buenas conversaciones, por el apoyo, por las tardes de estudio con café, las risas y todo el cariño.

A Kiki que llego en esta etapa de mi vida y me ha dado tantas alegrías con su ternura y amor. A Dumbo que con solo su presencia irradia paz y tranquilidad.

A mi amigo Ronny, que aun a la distancia ha estado presente apoyándome en este camino. A Jonathan, amigo y colega que tuvo un papel muy importante en el desarrollo de esta investigación, gracias por compartir tus conocimientos de metagenómica.

A mi *orientador* el profesor Michel Passarini por la oportunidad concedida, pese a no conocernos en un inicio y depositar su confianza en mí. Gracias por la orientación y guía en este camino científico.

Al Laboratorio G011 donde pude desarrollar mi investigación. A los técnicos de laboratorio especialmente a Carla por el soporte y ayuda en el laboratorio.

A los profesores del Programa de Posgraduación de Biociencias de la UNILA, por todo el conocimiento compartido.

A la Universidad Federal de Integración Latinoamericana (UNILA), por ser un espacio de crecimiento y aprendizaje que me permitió seguir profesionalizándome.

A la bolsa concedida por la PROBIU, que me permitió sustentarme en este tiempo de *Mestrado*.

"La vida persiste incluso en los rincones más hostiles,
y ahí es donde cuenta su historia más fascinante."

Anónimo.

ROBAYO, Marahia Isabel Guevara. 2025. **Diversidad y potencial biotecnológico de hongos antárticos mediante un enfoque integrado, dependiente e independiente de cultivo**. Asesores: PASSARINI, Michel Rodrigo Zambrano (asesor). 116 h.. Tesis de Maestría - PPG-BC (Programa de Posgrado en Biociencias), UNILA (Universidad Federal para la Integración Latinoamericana), Foz de Iguazú.

RESUMEN

La Antártida constituye uno de los ambientes más extremos del planeta, donde las bajas temperaturas, la escasez de nutrientes y la alta radiación UV limitan la vida. Sin embargo, estos factores han impulsado adaptaciones microbianas excepcionales, convirtiendo a los hongos antárticos en una fuente valiosa de enzimas frías con aplicaciones en la biotecnología ambiental e industrial. En este estudio se evaluó el potencial biotecnológico de hongos antárticos aislados de suelos provenientes de dos ambientes contrastantes: *Whalers Bay (WB)* (*Isla Decepción*), caracterizado por su historial antrópico, actividad volcánica y geotermal y presencia de un biofilm rico en óxidos de hierro; y Punta Hennequin (Isla Rey Jorge), un área natural con cobertura vegetal musgosa y menor influencia humana. Los análisis fisicoquímicos no evidenciaron contaminación por hidrocarburos o metales pesados, pero mostraron diferencias geoquímicas marcadas, con mayor contenido de hierro y pH más alcalino en *Whalers Bay*, y mayor carbono orgánico total y azufre en Punta Hennequin (PH). Se aislaron 53 hongos, cuya actividad enzimática se evaluó mediante ensayos en placa (medio sólido) para detectar proteasa, lipasa, amilasa, lacasa y lignina peroxidasa, utilizando medios suplementados con leche descremada, aceite de oliva, almidón, guayacol y el colorante Remazol Brillante Blue R (RBBR), respectivamente. Una alta proporción de aislados hidrolizó almidón (67,2%) y caseína (81,1%), mientras que se observaron actividades de lipasa (22,6%), decoloración de RBBR (28,3%) y oxidación de guayacol (1,8%). A partir de estos resultados, se seleccionaron cuatro aislados con el mejor desempeño en los ensayos en placa para su cuantificación en medio líquido. Entre ellos destacaron *Oudemansiella canarii* (PPH5), con mayor actividad amilasa (405,88 U/dL); *Antarctomyces* sp. (PWB6), con mayor actividad lipasa (11,76 U/mL); y *Cladosporium* sp. (RWB8), con los mayores valores de lacasa (0,401 U/L) y lignina peroxidasa (0,483 U/L). El análisis metagenómico independiente de cultivo, basado en la asignación taxonómica con Kraken2 y Bracken, mostró tendencias generales hacia el predominio de Ascomycota en ambos sitios. Se observaron patrones diferenciales en la composición fúngica, con 20 géneros detectados en Punta Hennequin y 23 en *Whalers Bay*, incluyendo géneros raros en ambientes antárticos como *Thermothielavioides, Pyricularia, Fulvia y Coccidioides*. Los índices de diversidad sugirieron mayor diversidad en WB (Shannon = 3,15; Simpson = 0,95; Chao1 = 46,4) respecto a PH (Shannon = 2,66; Simpson = 0,90; Chao1 = 31). De igual manera, los análisis funcionales indicaron posibles tendencias adaptativas: en PH predominaron dominios vinculados a la traducción, regulación génica y eficiencia metabólica, mientras que en WB se destacaron funciones asociadas al metabolismo redox, adquisición de hierro y formación de biofilms, lo que sugiere adaptaciones a un ambiente volcánico y mineralizado con influencia antrópica histórica. Estos resultados resaltan el valor de las comunidades fúngicas antárticas como bioindicadores ambientales y fuentes prometedoras de enzimas con potencial biotecnológico industrial y ambiental.

Palabras clave: bioprospección; hongos antárticos; enzimas psicrófilas; metagenómica; diversidad fúngica.

ROBAYO, Marahia Isabel Guevara. 2025. ***Diversidade e potencial biotecnológico de fungos antárticos por uma abordagem integrada, dependente e independente de cultivo***. *Orientadores*: PASSARINI, Michel Rodrigo Zambrano (*orientador*). 116 f.. *Dissertação* (*Mestrado*) - PPG-BC (*Programa de Pós-Graduação em Biociências*), UNILA (*Universidade Federal da Integração Latino-Americana*), *Foz do Iguaçu*.

RESUMO

A Antártica constitui um dos ambientes mais extremos do planeta, onde as baixas temperaturas, a escassez de nutrientes e a alta radiação UV limitam a vida. No entanto, esses fatores promoveram adaptações microbianas excepcionais, tornando os fungos antárticos uma fonte valiosa de enzimas adaptadas ao frio, com aplicações potenciais na biotecnologia ambiental e industrial. Neste estudo, avaliou-se o potencial biotecnológico de fungos antárticos isolados de solos provenientes de dois ambientes contrastantes: Whalers Bay (Ilha Deception), caracterizada por seu histórico antrópico, atividade vulcânica e geotermal, e presença de um biofilme rico em óxidos de ferro; e Punta Hennequin (Ilha Rei George), uma área natural coberta por musgos e com menor influência humana. As análises físico-químicas não evidenciaram contaminação por hidrocarbonetos ou metais pesados, mas mostraram diferenças geoquímicas marcantes: Whalers Bay apresentou maior teor de ferro e pH mais alcalino, enquanto Punta Hennequin exibiu maior teor de carbono orgânico total e enxofre. Foram isolados 53 fungos, cuja atividade enzimática foi avaliada por meio de ensaios em placa (meio sólido) para detecção de protease, lipase, amilase, lacase e lignina peroxidase, utilizando meios suplementados com leite desnatado, óleo de oliva, amido, guaiacol e o corante Remazol Brilliant Blue R (RBBR), respectivamente. Uma alta proporção de isolados hidrolisou amido (67,2%) e caseína (81,1%), enquanto se observaram atividades de lipase (22,6%), descoloração de RBBR (28,3%) e oxidação de guaiacol (1,8%). Com base nesses resultados, quatro isolados promissores foram selecionados para quantificação em meio líquido: Oudemansiella canarii (PPH5), com maior atividade amilásica (405,88 U/dL); Antarctomyces sp. (PWB6), com maior atividade lipásica (11,76 U/mL); e Cladosporium sp. (RWB8), com as maiores atividades de lacase (0,401 U/L) e lignina peroxidase (0,483 U/L). A análise metagenômica, realizada com Kraken2 e Bracken, revelou tendências gerais de dominância de Ascomycota em ambos os locais. Foram detectados 20 gêneros em Punta Hennequin e 23 em Whalers Bay, incluindo táxons raros em ambientes antárticos, como Thermothielavioides, Pyricularia, Fulvia e Coccidioides. Os índices de diversidade indicaram maior diversidade em Whalers Bay (Shannon = 3,15; Simpson = 0,95; Chao1 = 46,4) do que em Punta Hennequin (Shannon = 2,66; Simpson = 0,90; Chao1 = 31). As análises funcionais sugeriram possíveis tendências adaptativas: em Punta Hennequin, predominaram domínios relacionados à tradução, regulação gênica e eficiência metabólica, enquanto em Whalers Bay destacaram-se funções associadas ao metabolismo redox, aquisição de ferro e formação de biofilmes, indicando adaptação a um ambiente vulcânico, mineralizado e de influência antrópica histórica. De modo geral, os resultados destacam a relevância ecológica e biotecnológica das comunidades fúngicas antárticas como bioindicadores ambientais e fontes promissoras de enzimas psicrófilas com potencial para aplicações industriais e ambientais.

Palavras-chave: *bioprospecção; fungos antárticos; enzimas psicrofílicas; metagenômica; diversidade fúngica*.

ROBAYO, Marahia Isabel Guevara. 2025. ***Diversity and biotechnological potential of antarctic fungi through an integrated cultivation-dependent and independent approach***. *Advisors*: PASSARINI, Michel Rodrigo Zambrano (*advisor*). 116 *s.*. *Dissertation (Master's degree) - PPG-BC (Graduate Program in Biosciences), UNILA (Federal University of Latin American Integration)*, Foz do Iguaçu.

ABSTRACT

Antarctica constitutes one of the most extreme environments on Earth, where low temperatures, nutrient scarcity, and high UV radiation limit life. However, these factors have driven exceptional microbial adaptations, turning Antarctic fungi into a valuable source of cold-active enzymes with potential applications in environmental and industrial biotechnology.This study evaluated the biotechnological potential of Antarctic fungi isolated from soils of two contrasting environments: Whalers Bay (Deception Island), characterized by its anthropogenic history, volcanic and geothermal activity, and the presence of an iron oxide-rich biofilm; and Punta Hennequin (King George Island), a natural area covered by moss vegetation and with lower human influence. Physicochemical analyses revealed no evidence of hydrocarbon or heavy metal contamination but showed marked geochemical differences: Whalers Bay exhibited higher iron content and a more alkaline pH, whereas Punta Hennequin had higher total organic carbon and sulfur. A total of 53 fungal isolates were obtained, and their enzymatic activity was evaluated using plate assays on solid media to detect protease, lipase, amylase, laccase, and lignin peroxidase, using media supplemented with skim milk, olive oil, starch, guaiacol, and the dye Remazol Brilliant Blue R (RBBR), respectively. A high proportion of isolates hydrolyzed starch (67.2%) and casein (81.1%), while lipase (22.6%), RBBR decolorization (28.3%), and guaiacol oxidation (1.8%) were less frequent. Based on these results, four promising isolates were selected for quantitative evaluation in liquid media: Oudemansiella canarii (PPH5) with the highest amylase activity (405.88 U/dL); Antarctomyces sp. (PWB6) with the highest lipase activity (11.76 U/mL); and Cladosporium sp. (RWB8) with the highest laccase (0.401 U/L) and lignin peroxidase (0.483 U/L) activities. The metagenomic analysis, performed with Kraken2 and Bracken, revealed general trends toward Ascomycota dominance at both sites. Fungal composition differed between sites, with 20 genera detected in Punta Hennequin and 23 in Whalers Bay, including rare Antarctic taxa such as Thermothielavioides, Pyricularia, Fulvia, and Coccidioides. Diversity indices indicated higher diversity in Whalers Bay (Shannon = 3.15; Simpson = 0.95; Chao1 = 46.4) than in Punta Hennequin (Shannon = 2.66; Simpson = 0.90; Chao1 = 31). Functional analyses suggested possible adaptive trends: in Punta Hennequin, domains related to translation, gene regulation, and metabolic efficiency predominated, whereas in Whalers Bay, functions linked to redox metabolism, iron acquisition, and biofilm formation were more evident—indicating adaptation to a mineralized, volcanically influenced environment. Overall, these results highlight the ecological and biotechnological relevance of Antarctic fungal communities as environmental bioindicators and as promising sources of cold-active enzymes with industrial and environmental potential.

Keywords*: bioprospecting; Antarctic fungi; psychrophilic enzymes; metagenomics; fungal diversity.*

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa político de la Antártida donde se destacan las principales divisiones políticas y subdivisiones en el continente....18
Figura 2. Isla Decepción situada en el Archipiélago Shetland del Sur, isla de origen volcánico posee una característica forma de herradura....19
Figura 3. Tanques de almacenamiento de aceite de ballena localizados en *Whalers Bay*, Isla Decepción....20
Figura 4. Flujo de trabajo a seguir en la presente investigación, donde se muestran de manera general los diferentes enfoques y las técnicas....35
Figura 5. Sitios de muestreo....36
Figura 6. Curva de calibración estándar de almidón....41
Figura 7. Halos de decoloración producidos por los hongos en agar RBBR (0.5 g L^{-1})....53
Figura 8. Porcentaje de decoloración del colorante RBBR en medio líquido (PDB + RBBR-0.5g L^{-1}) por los aislados fúngicos seleccionados....55
Figura 9. Ensayo de decoloración del colorante RBBR en medio de cultivo líquido (PDB + RBBR) y producción de biomasa fúngica a lo largo 12 días a 15°C....56
Figura 10. Comparación de la actividad LAC y LiP en cuatro aislados fúngicos (PWB7, RWB8, PPH5 y RWB7)....58
Figura 11. *Screening* cualitativo de actividad lacasa en medio sólido....64
Figura 12. Detección cualitativa de actividad lipasa en placas con agar-Rodamina B....66
Figura 13. Actividad lipasa cuantificada en medio líquido utilizando 4-nitrophenil palmitato como sustrato....67
Figura 14. Detección cualitativa de actividad proteasa en medio con agar-leche descremada....69
Figura 15. Detección cualitativa de actividad amilasa en medio con agar-almidón....70
Figura 16. Actividad enzimática de amilasa, los valores representan la media de tres repeticiones independientes....71
Figura 17. Árbol filogenético fue basado en secuencias de la región ITS, construido mediante el método NJ (bootstrap con 1000 réplicas)....73
Figura 18. Distribución por filo en Punta Hennequin y *Whales Bay*....78
Figura 19. Abundancia relativa de géneros de hongos encontrados en Punta Hennequin y *Whalers Bay*....79
Figura 20. Curvas de rarefacción de especies para las comunidades microbianas de Punta Hennequin y *Whalers Bay*....83
Figura 21. Heatmap de las abundancias relativas de géneros fúngicos detectados en los sitios Punta Hennequin y *Whalers Bay*....85
Figura 22. Análisis de Correspondencia Canónica (ACC), que muestra la relación entre las variables fisicoquímicas y la composición de géneros fúngicos en los sitios Punta Hennequin y *Whalers Bay*....86

Figura 23. Red funcional de géneros fúngicos en A) Punta hennequin y B) *Whalers Bay*, coloreada según el guild ecológico asignado.....88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lista de las enzimas producidas por los hongos del suelo antártico.....23
Tabla 2. Programas bioinformáticos de uso libre para el análisis de datos de secuenciación masiva.....30
Tabla 3. Origen y características de las muestras de suelo recolectadas en la Antártida..36
Tabla 4. Cantidad de hongos aislados en los medios de cultivo PDA y R2A (Medio nutritivo y medio oligotrófico).....49
Tabla 5. Análisis fisicoquímico de las muestras de origen antártico, los valores se encuentran expresados en mg kg^{-1}.....50
Tabla 6. Potencial biotecnológico de hongos aislados del suelo de la Isla Decepción y la Isla Rey George, Antártida marítima.....62
Tabla 7. Identificación molecular basada en la región (ITS), amplificada con los cebadores ITS5 e ITS4, código y asignación filogenética de aislados fúngicos.....74
Tabla 8. Índices de diversidad de las comunidades fúngicas en los sitios muestreados…83
Tabla 9. Resumen de los dominios proteicos identificados en las muestras de Punta Hennequin y *Whalers Bay*.....91

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

ABTS	(2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico ácido))
BLASTn	*Basic Local Alignment Search Tool for nucleotides*
BTEX	Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xilenos
COT	Carbono Orgánico Total
DMSO	Dimetilsulfóxido
HPAs	Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos
ITS	Región Espaciadora Interna
LiP	Lignina Peroxidasa
PDA	*Potato Dextrose Ágar*
PDB	*Potato Dextrose Broth*
PCB	Bifenilos Policlorados
PH	Punta Hennequin
pNPP	p-Nitrofenil Palmitato
PUFAs	Ácidos Grasos Polinsaturados
R2A	Reasoner's 2A agar
RBBR	Remazol Brilliant Blue R
Rpm	Revoluciones por minuto
SPDA	*Starch Potato Dextrose Agar*
WB	*Whalers Bay*

ÍNDICE

RESUMEN.....7
RESUMO.....8
ABSTRACT.....9
ÍNDICE DE FIGURAS.....10
ÍNDICE DE TABLAS.....12
LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS.....13
1 INTRODUCCIÓN.....17
1.1 Referencial teórico.....17
1.1.1 Antártida aspectos generales.....17
1.1.2 Actividad antrópica en la Antártida.....19
1.1.3 Bioprospección en ambientes fríos.....21
1.1.4 Potencial Biotecnológico de Microorganismos Antárticos y enzimas.....22
1.1.5 Hongos antárticos.....25
1.1.6 Estudio de la diversidad microbiana.....26
1.1.7 Metagenómica como herramienta para la bioprospección en ambientes fríos 28
1.1.8 Secuenciación masiva en metagenómica.....29
1.1.9 Herramientas para el análisis metagenómico.....29
1.2 Justificativa.....31
1.3 Pregunta norteadora.....32
1.4 Hipótesis.....33
2 OBJETIVOS.....34
2.1 General.....34
2.2 Específicos.....34
3 MATERIAL E MÉTODOS.....35
3.1 Colecta de muestras.....35
3.2 Análisis Fisicoquímicos de suelo.....36
3.3 Enfoque dependiente de cultivo.....37
3.3.1 Aislamiento de hongos.....37
3.3.2 S*creening* enzimático cualitativo.....37
3.3.2.1 Evaluación de la decoloración de RBBR en medio sólido.....37
3.3.2.2 Evaluación de la decoloración de RBBR en medio líquido.....38
3.3.2.3 Evaluación cuantitativa de la decoloración de RBBR y determinación del peso seco.....39

3.3.2.4 Guayacol.....39
3.3.2.5 Lipasa.....39
3.3.2.6 Proteasa.....40
3.3.2.7 Amilasa.....40
3.3.3 Ensayos cuantitativos de actividad enzimática.....40
3.3.3.1 Actividad amilasa.....40
3.3.3.2 Actividad lipasa.....42
3.3.3.3 Actividad lignina peroxidasa.....42
3.3.3.4 Actividad lacasa.....43
3.3.4 Identificación molecular de aislados promisorios.....44
3.3.5 Análisis estadístico.....44
3.4 Enfoque independiente de cultivo (metagenómica).....45
3.4.1 Extracción de ADN metagenómico.....45
3.4.2 Secuenciación.....45
3.4.3 Análisis bioinformático.....45
3.4.3.1 Clasificación taxonómica (Kraken2 + Bracken).....46
3.4.3.2 Análisis de diversidad microbiana (índices alfa y beta).....46
3.4.3.3 Diversidad funcional de la comunidad encontrada en los datos metagenómicos.....47
3.4.3.4 Análisis funcional predictivo (GeneMark).....48
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....49
4.1 Análisis de la comunidad fúngica mediante métodos dependientes de cultivo 49
4.1.1 Aislamiento de hongos de suelo antártico.....49
4.1.2 Características químicas del suelo.....50
4.2 Selección de actividad enzimática.....53
4.2.1 S*creening* de enzimas ligninoliticas por decoloración de RBBR en medio solido 53
4.2.2 Ensayo de decoloración de RBBR en medio liquido.....54
4.2.3 Ensayo de decoloración de RBBR y producción de biomasa.....55
4.2.3.1 Cuantificacion de actividad de enzimas ligninolíticas.....57
4.2.3.2 Lacasa.....58
4.2.3.3 Lignina Peroxidasa.....59
4.2.4 S*creening* de actividades enzimáticas hidrolíticas en medio solido.....60
4.2.4.1 Guayacol.....64

4.2.4.2 Lipasa.....65
4.2.4.3 *Cuantificación de la Actividad enzimática Lipasa.....67*
4.2.4.4 Proteasa.....68
4.2.4.5 Amilasa.....*69*
4.2.4.6 *Cuantificación de la Actividad enzimática Amilasa.....71*
4.2.5 Identificación taxonómica de hongos productores de enzimas.....72
4.3 Análisis de la comunidad fúngica mediante herramientas metagenómicas…..77
4.3.1 Diversidad fúngica.....78
4.3.2 Índices de diversidad.....83
4.3.3 Análisis de Correspondencia Canónica (CCA).....85
4.3.4 Diversidad Funcional.....88
4.2.5 Anotación funcional.....90
5 CONCLUSIONES.....94
6 REFERENCIAS.....96
APÉNDICES.....115
Apéndice A – Matriz funcional de los hongos identificados para el análisis de redes de interacción.....115

1 INTRODUCCIÓN

La Antártida es un continente considerado inhóspito debido a sus condiciones climáticas extremas. Para sobrevivir, los organismos han tenido que adaptarse a bajas temperaturas, poca disponibilidad de nutrientes, aguas hipersalinas, ciclos de congelación-descongelación y altos niveles de radiación ultravioleta (CARLOS *et al.*, 2024).

Estas condiciones, que resultan limitantes para la mayoría de los organismos, han impulsado la evolución de adaptaciones fisiológicas, genéticas y metabólicas únicas en los microorganismos que habitan allí. Como resultado, estos organismos constituyen reservorios valiosos de biomoléculas, y enzimas con alto potencial biotecnológico (PASSARINI *et al.*, 2020).

No obstante, uno de los principales desafíos en el estudio de la diversidad microbiana en ambientes extremos es la baja proporción de microorganismos que pueden ser cultivados en laboratorio. Para superar esta limitación, se han desarrollado herramientas moleculares basadas en secuenciación masiva, las cuales permiten acceder a la fracción no cultivable del microbioma, proporcionando información detallada sobre su composición taxonómica, diversidad y potencial funcional.

En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo explorar la diversidad fúngica y el potencial enzimático de hongos antárticos asociados a muestras de suelo provenientes de dos ambientes contrastantes: uno ubicado en la Isla Decepción (Bahía Balleneros), un sitio históricamente alterado por actividades humanas como la explotación de aceite de ballena, y otro en la Isla Rey Jorge (Punta Hennequin), considerado un ambiente más prístino y asociado a flora y fauna autóctonas. Para ello, se aplicaron enfoques dependientes e independientes de cultivo, incluyendo el aislamiento e identificación de cepas fúngicas, la evaluación de su actividad enzimática, así como análisis metagenómicos para caracterizar la diversidad fúngica total y sus posibles funciones ecológicas.

1.1 Referencial teórico

1.1.1 Antártida aspectos generales

La Antártida se encuentra ubicada en el polo sur del planeta dentro del círculo polar antártico, por debajo de la Convergencia Antártida, paralela 60° latitud sur. Ocupa aproximadamente 14.000.000 km², de los cuales menos del 1% constituyen áreas libres de

hielo (BOCKHEIM *et al.*, 2015). Este territorio está compuesto por una gran área continental, un área peninsular y un conjunto de numerosas islas. Como se puede ver a continuación en la figura 1.

Figura 1. Mapa político de la Antártida donde se destacan las principales divisiones políticas y subdivisiones en el continente

Fuente: (SONI; SATEESH; PESHIN, 2014).

Por lo tanto, es el continente más frío, seco y ventoso, con mayor altura media (más de 2000 m sobre el nivel del mar). El ambiente antártico se caracteriza por bajas temperaturas, alta incidencia de rayos UV, ciclos de congelación y descongelación, bajo contenido de nutrientes y alta salinidad, además de largos períodos de oscuridad (WENTZEL *et al.*, 2019). La temperatura promedio de las costas antárticas en verano ronda los 0 °C, en invierno desciende en un rango de -20 a -50 °C. Si se consideran los promedios de verano e invierno, puede decirse que las zonas costeras muestran amplitudes térmicas

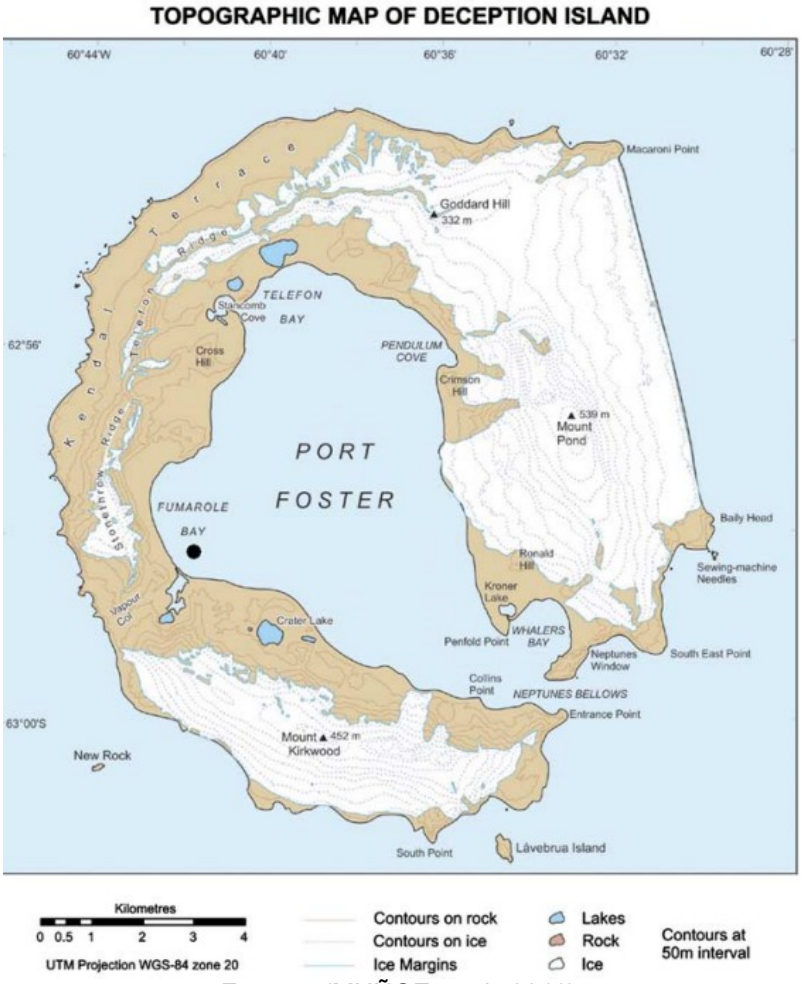
moderadas, de alrededor de 10-15 °C. En cambio, las condiciones climáticas de la meseta polar son mucho más extremas; las marcas estivales superan los -20 °C, y los promedios invernales suelen ser inferiores a -60 °C.

1.1.2 Actividad antrópica en la Antártida

La Antártida era considerada como el último continente prístino, debido a sus condiciones climáticas y aislamiento geográfico lo que le permitió conservar sus ecosistemas casi inalterados. Sin embargo, el aumento de la actividad antropogénica ha favorecido la alteración de este ambiente (JARA *et al.*, 2020).

En la Isla Decepción (Figura 2) se estableció el primer asentamiento humano semipermanente de la Antártida. Esta isla consta de un volcán activo formado por una caldera inundada con una estrecha entrada hacia su interior.

Figura 2. Isla Decepción situada en el Archipiélago Shetland del Sur, isla de origen volcánico posee una característica forma de herradura



Fuente: (MUÑOZ *et al.*, 2011).

Esta singular característica geológica fue aprovechada por cazadores de focas y ballenas como refugio natural frente al mar abierto. En 1911, en *Whalers Bay*, se instaló la estación ballenera Hektor, y en los años siguientes numerosos barcos dedicados a la caza de ballenas utilizaron este puerto hasta 1931, cuando el mercado del aceite de ballena entró en crisis (HELD; BLANCHETTE, 2017). Esta actividad se centraba principalmente en la extracción y recolección de aceite de ballena, un producto altamente valorado en la época como fuente de combustible.

El almacenamiento del aceite de ballena se llevaba a cabo en enormes tanques con capacidad para miles de litros, algunos de los cuales perduran hasta la actualidad (Figura 3). La industria ballenera se considera una de las más controvertidas de la historia debido a que la caza indiscriminada de cetáceos, resultó en una drástica disminución de sus poblaciones (GUSTAFSSON, 2019).

Figura 3. Tanques de almacenamiento de aceite de ballena localizados en *Whalers Bay*, Isla Decepción

Fuente: (REZNIK, 2015).

Las intervenciones humanas en el territorio Antártico han provocado alteraciones en el ecosistema, se han reportado problemas como la introducción de especies invasoras y

contaminación ambiental. Metales pesados, hidrocarburos y bifenilos policlorados (PCB) se encuentran entre los contaminantes comúnmente encontrados en estas regiones antárticas (RIZZO *et al.*, 2020).

También es importante destacar que la Isla Decepción presenta actividad volcánica, como lo demuestran las fumarolas y la presencia de aguas termales. Esta actividad geotérmica, sumada a las erupciones que transformaron el entorno, creando gradientes físico-químicos singulares que promueven la diversidad y adaptación de las comunidades microbianas (IBAÑEZ *et al.*, 2003).

Estudios recientes han demostrado que los suelos antárticos pueden funcionar como reservorios de genes implicados en la transformación de hidrocarburos orgánicos y en rutas de degradación similares a la lignina. Mediante el uso de matrices funcionales GeoChip, (ZUCCONI *et al.*, 2020) identificaron una amplia diversidad de capacidades metabólicas en las comunidades microbianas presentes en suelos y rocas superficiales, muchas de ellas asociadas con la tolerancia a condiciones ambientales extremas.

Estos hallazgos aportan información valiosa sobre los mecanismos moleculares que permiten la supervivencia microbiana en entornos hostiles y destacan el potencial de los suelos antárticos como fuentes de funciones de interés biotecnológico, especialmente para aplicaciones en biorremediación.

1.1.3 Bioprospección en ambientes fríos

La bioprospección es el proceso de exploración de la biodiversidad para identificar organismos, genes, moléculas y compuestos bioactivos con potencial de aplicación en industrias como la farmacéutica, médica, alimentaria, agrícola o ambiental (KODZIUS; GOJOBORI, 2015). En particular, los ambientes fríos han despertado creciente interés debido a la singularidad metabólica de sus microorganismos y al potencial biotecnológico de sus productos.

Se estima que más del 75 % de la superficie terrestre está dominada por ambientes fríos, donde las temperaturas promedio no superan los 5 °C durante el año (VESTER; GLARING; STOUGAARD, 2014). En la Antártida, los microorganismos psicrófilos y psicrótrofos constituyen el grupo dominante, habiéndose adaptado a condiciones extremas mediante modificaciones en sus membranas y sistemas enzimáticos (MUÑOZ *et al.*, 2017).

La bioprospección puede llevarse a cabo mediante métodos dependientes de cultivo o enfoques metagenómicos. Los primeros consisten en aislar y cultivar microorganismos del

ambiente para evaluar sus capacidades funcionales, como la producción de enzimas o compuestos antimicrobianos. No obstante, se estima que menos del 1 % de los microorganismos ambientales son cultivables mediante técnicas convencionales, lo que limita severamente su estudio (AKONDI; LAKSHMI, 2013).

En contraste, los enfoques independientes de cultivo, basados en herramientas metagenómicas, permiten ampliar significativamente el conocimiento sobre la diversidad microbiana presente en una muestra ambiental, incluyendo una proporción importante de microorganismos no cultivables mediante métodos tradicionales. El análisis de secuencias de ADN, como los genes ribosomales, ha revelado una diversidad microbiana mucho mayor de la esperada y ha facilitado la identificación de nuevos grupos taxonómicos y funciones metabólicas con potencial biotecnológico (VESTER; GLARING; STOUGAARD, 2014).

1.1.4 Potencial Biotecnológico de Microorganismos Antárticos y enzimas

Los microorganismos que habitan en la Antártida abarcan representantes de los tres dominios principales: Bacteria, Archaea y Eukarya y son considerados extremófilos por su capacidad para sobrevivir en condiciones ambientales severas (DUARTE *et al.*, 2017) y pueden ser clasificados como psicrófilos y psicrotolerantes. Entre ellos se destacan los microorganismos psicrófilos que pueden crecer a 0 °C, con un crecimiento óptimo a temperaturas ≤15 °C y un crecimiento máximo a temperaturas ≤20 °C. En cambio, los microorganismos psicrotolerantes pueden crecer a 0 °C, pero su temperatura máxima de crecimiento se encuentra entre 15 °C y 25 °C (DUARTE *et al.*, 2018).

Las bajas temperaturas afectan negativamente a los sistemas biológicos ya que incrementan la viscosidad celular, causan estrés oxidativo, inducen la formación de cristales de hielo, reducen la fluidez de la membrana y disminuyen la difusión de solutos (DUARTE *et al.*, 2017). Además de la temperatura existen otros factores ambientales como desecación, agua hipersalina, períodos de oscuridad durante el invierno, exposición a altos niveles de radiación solar UVB (280-314 nm) en el verano, que van a influir en la supervivencia de estos microorganismos. (WENTZEL *et al.*, 2019).

Para enfrentar estos desafíos, los microorganismos antárticos desarrollaron adaptaciones fisiológicas, metabólicas y estructurales, incluyendo la síntesis de proteínas anticongelantes, exopolisacáridos, pigmentos fotoprotectores, ácidos grasos poliinsaturados y, especialmente, enzimas activas a bajas temperaturas (DUARTE *et al.*, 2017). Estas enzimas, conocidas como enzimas adaptadas al frio, exhiben alta eficiencia

catalítica a temperaturas moderadas y reducidas, acompañada de una marcada termosensibilidad, flexibilidad estructural y un amplio rango de funcionamiento en pH y temperatura, características que compensan las bajas tasas de reacción propias de ambientes fríos (ZUCCONI *et al.*, 2020).

Las enzimas son catalizadores biológicos de origen proteico que facilitan y aceleran reacciones químicas esenciales para la vida, incluyendo rutas metabólicas clave como la degradación de moléculas orgánicas complejas (NELSON; COX, 2021). Los microorganismos psicrófilos pueden producir enzimas con una actividad específica hasta diez veces mayor en condiciones frías, lo que compensa las bajas tasas de reacción propias de estos ambientes (MANGIAGALLI; LOTTI, 2021).

Se estima que el mercado mundial de enzimas alcanzará entre 13 y 14 mil millones de dólares para 2025, impulsado por su elevada especificidad catalítica y la creciente demanda industrial. Además, se proyecta un crecimiento sostenido del 6,5 % entre 2023 y 2030, con un valor estimado de 20,31 mil millones de dólares al finalizar dicho periodo (BULLO *et al.*, 2024; HAMID *et al.*, 2022).

Su relevancia biotecnológica es considerable, ya que permiten procesos industriales más sostenibles y de menor costo energético al operar sin necesidad de altas temperaturas. Se aplican en áreas como biología molecular, producción de detergentes, procesamiento de alimentos y bebidas, industria textil, sector farmacéutico y biorremediación (DUARTE *et al.*, 2017; MANGIAGALLI; LOTTI, 2021).

Las bajas temperaturas son esenciales en procesos industriales que involucran compuestos volátiles o sensibles al calor, o en los que se deben evitar reacciones químicas indeseadas a altas temperaturas y problemas de contaminación, como sucede en la fabricación de diversos alimentos, bebidas, productos químicos finos y farmacéuticos (MANGIAGALLI; LOTTI, 2021).

En la tabla 1 se presenta una lista de las enzimas producidas por los hongos del suelo antártico agrupadas según su actividad biológica.

Tabla 1. Lista de las enzimas producidas por los hongos del suelo antártico

Categoría de la enzima	Enzima	Taxón	Sitio de colecta
Metabolismo de Carbohidratos	Celulasa	-*Colletotricum* sp (Sub. *Glomerella* sp.) -*Geomices* spp. -*Goffeauzyma gastrica* (sub. *Crptococcus gastricus)*	Isla Rey Jorge
	Quitinasa	-*Metschnikowia* sp. -*Mrakia psychrophila*	Isla Rey Jorge
Metabolismo de proteinas	Ureasa	-*Pseudogymnoascus sp*	Isla Rey Jorge; Isla

	Proteinasa	*-Sporobolomyces roseus* *-Goffeauzyma gilvescens* *-Leuconeurospora* sp. *-Leucosporidium scottii*	Decepción Isla Rey Jorge
Metabolismo de Lipidos	Asparaginasa Lipasa	*-Trichosporon asahii* *-Sporobolomyces roseus* *-Mrakia frigida* *- Metschnikowia* sp.	Schirmacher Hills Isla Decepción; Isla Rey Jorge; Litchfield Island
Enzimas Antioxidantes	Superoxido dismutasa	*-Cladosporium cladosporioides* *- C. oxysporum*	Livingston Island
	Catalasa	*-Aspergillus glaucus* *-Penicillium aurantiogriseum*	Livingston Island

Fuente: información tomada de ZUCCONI *et al.* (2020).

Estudios han demostrado el potencial enzimático de hongos aislados de suelos antárticos. Por ejemplo, WENTZEL *et al.* (2018) reportaron la producción de proteasa por parte de *Pseudogymnoascus* sp. CRM1533, aislado en la Isla Rey Jorge, con una actividad enzimática de 11.47 U/mL. Posteriormente, WENTZEL *et al.* (2019) identificaron hongos filamentosos con actividades lipolíticas y proteolíticas en suelos y sedimentos marinos de la Bahía Almirantazgo, destacando *Metschnikowia* sp. CRM 1589 por su actividad lipasa (0.88 U/mL). Estos hallazgos refuerzan el potencial de los hongos antárticos como fuentes de enzimas adaptadas al frío, con aplicaciones industriales en condiciones de baja temperatura.

Además, enzimas de relevancia médica también han sido identificadas. En Schirmacher Hills, alrededor de 30 cepas de hongos como *Aspergillus* sp., *Coprinopsis cinerea*, *Coprinopsis* sp., *Trichosporon asahii* y *Aspergillus niger* demostraron producir L-asparaginasa libre de glutaminasa y ureasa, enzimas de interés en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda (ZUCCONI *et al.*, 2020).

Algunos hongos antárticos han demostrado un notable potencial en procesos de biorremediación, tales como la descomposición de hidrocarburos del petróleo y la degradación de compuestos xenobióticos. Las enzimas clave involucradas en estos procesos son las ligninolíticas, con especial énfasis en la lacasa, que es ampliamente utilizada debido a su capacidad para oxidar una variedad de sustratos como gasolina, diésel y HPAs (CARLOS *et al.*, 2023).

La producción de enzimas ligninolíticas se reportó por primera vez en la Antártida cuando se estudiaron hongos aislados de diferentes sitios de la región de la Bahía del Almirantazgo (Isla Rey Jorge). En el trabajo realizado por DUARTE *et al.* (2018) evaluaron la capacidad de hongos filamentosos aislados de muestras de suelo de la Isla Rey Jorge para la producción de enzimas, incluida la lacasa. Este estudio encontró hongos capaces de

producir enzimas ligninolíticas, los cuales pertenecían a géneros como *Penicillium*, *Oidiodendron, Cosmospora, Geomyces* y *Cladosporium*. El hongo *Cadophora* spp. fue el mejor productor de lacasa.

De forma complementaria, MARTORELL *et al.* (2019) encontraron que el 37 % de sus hongos aislados presentaban actividad ligninolítica, mientras que CARLOS *et al.* (2023) reportaron que los aislados FAD28 (Isla Decepción) y FAR18 (Isla Rey Jorge) decoloraron el medio RBBR en un 83.3 % y 68.9 %, respectivamente, siendo FAR18 el mejor productor de enzimas oxidativas (0.103 U/L a los 14 días).

La evidencia molecular también respalda el potencial de estos hongos. YERGEAU; KOWALCHUK (2008) evaluaron la densidad bacteriana y fúngica, así como la estructura de la comunidad, ellos encontraron altas densidades de genes de lacasa en diversos suelos antárticos. Los microorganismos degradadores de alcanos poseen múltiples genes divergentes, para la oxidación de hidrocarburos.

KLOOS; MUNCH; SCHLOTER, (2006) identificaron genes del tipo alkB en muestras ambientales, lo que indica un potencial intrínseco para la degradación de hidrocarburos. El genoma de *Oleispira antarctica*, por ejemplo, alberga varios genes relacionados con la degradación de alcanos (OLEAN_C23040, OLEAN_C34350 y OLEAN_C34450) (KUBE *et al.*, 2013).

Por otro lado, algunos microorganismos antárticos no solo degradan hidrocarburos, sino que también los producen. PASSARINI *et al.* (2020) identificaron cepas bacterianas como *Arthrobacter livingstonensis* y *Pseudoalteromonas arctica* capaces de sintetizar el hidrocarburo undecano, con aplicaciones potenciales en la producción de biocombustibles.

A pesar del creciente interés en estos organismos, aún se conoce poco sobre la diversidad fúngica antártica y su potencial biotecnológico. Los hongos que habitan este ecosistema representan una fuente valiosa para el descubrimiento de nuevas enzimas, metabolitos, polímeros y compuestos bioactivos con aplicaciones industriales y médicas.

1.1.5 Hongos antárticos

Los hongos microscópicos comprenden un grupo diverso de organismos eucariotas, aerobios, inmóviles y no fotosintéticos, que pueden presentarse en forma de levaduras unicelulares u hongos filamentosos multicelulares. Se caracterizan por poseer una pared celular compuesta principalmente de quitina y un metabolismo versátil que les permite

colonizar una amplia gama de ambientes, incluidos aquellos con condiciones extremas como los suelos antárticos (SUÁREZ; PEÑARANDA, 2021).

Tanto hongos como levaduras presentan una enorme relevancia ecológica y biotecnológica. En los ecosistemas terrestres, los hongos actúan como descomponedores clave, reguladores de la estructura del suelo y participantes activos en los ciclos biogeoquímicos, particularmente en la transformación de la materia orgánica y la movilización de nutrientes (HU *et al.*, 2019).

Desde una perspectiva aplicada, los hongos microscópicos son considerados verdaderas biofactorías naturales debido a su capacidad de producir metabolitos secundarios, enzimas, antibióticos, ácidos orgánicos y compuestos con potencial terapéutico. Sus aplicaciones abarcan sectores como la industria alimentaria, la farmacéutica, la agroindustria, la biorremediación y la producción de biocombustibles (HAMID *et al.*, 2022).

A pesar de su relevancia, la diversidad de hongos microscópicos ha sido históricamente subestimada. Gracias a las herramientas moleculares modernas, como la secuenciación masiva y el análisis de ADN ambiental, se ha evidenciado una diversidad mucho mayor que la reconocida por métodos morfológicos tradicionales. Se estima que existen entre 2,2 y 3,8 millones de especies de hongos, de las cuales solo 100.000 especies han sido descritas formalmente (HYDE *et al.*, 2020).

En ambientes antárticos, la diversidad fúngica está dominada por representantes de los filos *Ascomycota* y *Basidiomycota*, este último mayormente compuesto por levaduras. Otros filos como *Mucoromycota, Chytridiomycota* y *Mortierellomycota* también han sido detectados, aunque con menor frecuencia (ZUCCONI *et al.*, 2020). Dentro de los *Ascomycota*, se han reportado con frecuencia géneros *Pseudogymnoascus, Mortierella, Acremonium, Alternaria, Antarctomyces, Ascobolus, Aspergillus, Beauveria, Cadophora, Capnobotryella, Chaetomium, Cladosporium, Dactylella, Davidiella, Embellisia, Entrophospora, Engyodontium, Epicoccum, Eurotium, Fusarium, Geomyces, Gyoerffyella, Lecanicillium, Leuconeurospora, Microdochium, Mycocentrospora, Penicillium, Phaeosphaeria* y *Phoma* (DUARTE *et al.*, 2017).

1.1.6 Estudio de la diversidad microbiana

Los microorganismos representan la forma de vida más abundante y diversa del planeta, colonizando desde ambientes extremadamente fríos (< 0 °C) hasta medios

hipertermales (> 100 °C), así como entornos con pH extremos o elevada salinidad. Esta capacidad adaptativa ha dado lugar a formas especializadas llamadas extremófilos (SCHRÖDER; BURKHARDT; ANTRANIKIAN, 2020).

Dentro de este vasto universo microbiano, los hongos microscópicos constituyen un grupo eucariota diverso y con amplia presencia en casi todos los ecosistemas (FIGUEREDO *et al.*, 2019). En ambientes terrestres y marinos, cumplen funciones ecológicas clave como saprótrofos, simbiotas (micorrizas, endófitos, líquenes) y, en algunos casos, patógenos de plantas y animales (DOYTCHINOV & DIMOV, 2022). Su papel es fundamental en la descomposición de materia orgánica, la formación de la estructura del suelo y los ciclos biogeoquímicos.

En ecología, la diversidad biológica puede medirse mediante distintos enfoques. WHITTAKER (1960) propuso los conceptos de diversidad alfa, beta y gamma. La diversidad alfa describe la riqueza de especies a nivel local (en una sola área o hábitat), la beta indica la variación en la composición de especies entre sitios, y la gamma representa la diversidad total de una región. Estos índices permiten comparar comunidades microbianas entre hábitats distintos, como los suelos de diferentes regiones antárticas (BASELGA; RODRÍGUEZ, 2019).

Sin embargo, el estudio de la diversidad microbiana se ha visto limitado históricamente por la necesidad de cultivar los microorganismos en laboratorio. Se estima que más del 90 % de los microorganismos presentes en la naturaleza no pueden ser cultivados mediante técnicas convencionales, debido a que muchos requieren condiciones específicas o interacciones con otros organismos para sobrevivir (KATZ; HOVER; BRADY, 2015).

Para superar estas limitaciones, se han desarrollado estrategias independientes de cultivo, basadas en el análisis directo del ADN o ARN ambiental. Estas herramientas permiten acceder a la diversidad microbiana total presente en una muestra sin necesidad de cultivar los organismos, mediante la amplificación y secuenciación de regiones genéticas específicas. Así, es posible identificar microorganismos, analizar su diversidad filogenética y detectar genes de interés biotecnológico, como los que codifican para enzimas, antibióticos, pigmentos u otros metabolitos secundarios (CADENA-ZAMUDIO *et al.*, 2016).

1.1.7 Metagenómica como herramienta para la bioprospección en ambientes fríos

La metagenómica es una herramienta de la biología molecular que permite analizar de forma integral todas las secuencias de ADN presentes en una muestra ambiental, sin necesidad de cultivo previo (MARCHESI; RAVEL, 2015). La aplicación de estas técnicas ha permitido la comprensión más precisa de comunidades microbianas, ya que, como se sabe, la mayoría de los microorganismos no pueden ser cultivados en laboratorio.

Gracias a la metagenómica se pueden realizar estudios de diversidad taxonómica, ecología y evolución microbiana. Así como identificar funciones específicas mediante la detección de genes o clústeres genómicos de interés. Los esfuerzos por caracterizar la diversidad con ayuda de la metagenómica han demostrado resultados promisorios (VESTER; GLARING; STOUGAARD, 2014).

Esta técnica se ha utilizado para el estudio de microorganismos polares y sus capacidades funcionales. Como es el caso de ZHANG *et al.* (2023), quienes aplicaron la metagenómica *shotgun* para caracterizar la diversidad y el potencial funcional del micobioma marino en el fiordo ártico Kongsfjorden, ubicado en Svalbard (Alto Ártico). El análisis de 24 muestras revelo una comunidad altamente diversa, con ocho filos y más de 200 géneros cuya composición taxonómica y funcional varió según la profundidad del fiordo. Factores ambientales como la profundidad, el nitrito (NO_2^-) y el fosfato (PO_4^{3-}) fueron determinantes en la estructuración del micobioma, evidenciando la influencia directa de las condiciones ambientales sobre la distribución y la función de los hongos marinos.

Por otro lado BERLEMONT *et al.* (2011), construyó una metagenoteca PP1, a partir del metagenoma de suelos antárticos, la cual fue sometida a análisis funcionales y genotípicos para identificar enzimas adaptadas al frío y elementos génicos móviles. El tamizaje fenotípico permitió detectar clones productores de lipasas, proteasas, amilasas y celulasas activas a bajas temperaturas (35–55 °C), evidenciando un comportamiento psicrotolerante de las comunidades microbianas antárticas. Además, se identificaron los genes intI y tnp, asociados a la movilización de material genético, lo que sugiere la existencia de reorganizaciones génicas únicas en estos suelos.

De este modo, la metagenómica ha revolucionado la forma en que estudiamos y comprendemos los microorganismos en su entorno natural, abriendo nuevas oportunidades para la investigación y la aplicación en sectores industriales.

1.1.8 Secuenciación masiva en metagenómica

La aparición de las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) ha permitido secuenciar millones de moléculas de ADN de manera simultánea, lo que ha facilitado el estudio del metagenoma. Estas tecnologías revolucionaron la forma en que se obtiene y analiza la información genética, ya que permiten la secuenciación de ADN y ARN de manera rápida y a gran escala. Una de sus mayores ventajas es que generan volúmenes enormes de datos en una sola reacción, posibilitando la investigación genómica con mayor eficiencia a menor costo en comparación con las metodologías antiguas (METZKER, 2010). Estas tecnologías de NGS distan mucho del método de Sanger conocido como secuenciación de primera generación, el cual dominó la industria por casi veinte años.

La metagenómica *shotgun* se basa en la secuenciación no dirigida de todo el material genético presente en una muestra ambiental, permitiendo caracterizar simultáneamente la composición taxonómica y el potencial funcional de las comunidades microbianas. Este enfoque comprende etapas que incluyen: 1) Recolección y secuenciación de muestras, 2) Procesamiento y análisis bioinformático de las lecturas, y 3) Interpretación estadística y biológica de los resultados. Aunque es una herramienta poderosa para explorar microbiomas complejos, presenta limitaciones asociadas a sesgos experimentales y a la complejidad de los análisis computacionales requeridos para su interpretación (QUINCE *et al.*, 2017).

Las técnicas de NGS nos permiten recopilar información y entender la enorme diversidad de microorganismos que existen en la Antártida y, sobre todo, aprovechar los productos biotecnológicos que estos microorganismos tienen para ofrecer.

1.1.9 Herramientas para el análisis metagenómico

Una vez obtenidos los archivos de secuenciación masiva, es imprescindible procesar los datos brutos con herramientas bioinformáticas especializadas. A continuación (Tabla 2), se describen algunos programas de uso libre que cubren etapas clave del análisis metagenómico.

Con estas herramientas se pueden llevar a cabo desde la clasificación taxonómica hasta la reconstrucción de genomas y la anotación funcional, lo que permite, por ejemplo, identificar genes de adaptación al frío en metagenomas antárticos (KOO *et al.*, 2016) o descubrir clusters biosintéticos en linajes no cultivados (WASCHULIN *et al.*, 2021).

Tabla 2. Programas bioinformáticos de uso libre para el análisis de datos de secuenciación masiva

Programa	Aplicaciones	Referencia
Kraken	Asignación taxonómica basada en k-mers a nivel de genoma completo.	(WOOD; SALZBERG, 2014)
Bracken	Reestimación de abundancia de especies a partir de resultados de Kraken con mayor precisión.	(LU *et al.*, 2017)
Kaiju	Clasificación taxonómica basada en coincidencias proteicas usando el índice Burrows-Wheeler.	(MENZEL; NG; KROGH, 2016)
MG-RAST	Análisis completo de metagenomas (calidad, anotación funcional, taxonomía).	(MEYER *et al.*, 2008)
GeneMark	Predicción de genes codificantes en genomas microbianos y metagenomas (funciona sin anotaciones previas).	(LOMSADZE, 2005)
PICRUSt	Predicción funcional basada en perfiles taxonómicos del gen 16S rRNA.	(DOUGLAS *et al.*, 2020)
PhaME	Análisis filogenético y evolutivo basado en variantes genómicas.	(SHAKYA *et al.*, 2020)

Fuente: autoría propia.

Numerosos estudios se han enfocado en la caracterización de metagenomas provenientes de ambientes extremos. Por ejemplo, KOO *et al.* (2016) investigaron la presencia de proteínas asociadas a la adaptación al frío en tapetes microbianos de la Antártida. Utilizando la plataforma MG-RAST, identificaron 1473 coincidencias con la base de datos de subsistemas metabólicos de SEED, agrupadas en cinco tipos de proteínas relevantes: proteínas anticongelantes (AFP), proteínas de choque frío tipo DEAD-box (CSDA), desaturasas de ácidos grasos (FAD), proteínas de nucleación de hielo (INP) y trehalosa sintasa (TS). Este estudio evidencia el potencial de MG-RAST como una herramienta accesible y eficaz para la anotación funcional y la búsqueda de enzimas adaptadas a condiciones extremas.

Más allá de estas investigaciones iniciales, los recientes avances en metagenómica han demostrado el valor de pipelines bioinformáticas robustas. No obstante, los estudios con muestras provenientes de suelos, enfrentan limitaciones debido a la falta de bases de datos específicas y comunidades representativas que permitan validar la clasificación taxonómica. Investigaciones recientes evidencian que el uso de comunidades in-silico y bases personalizadas mejora notablemente la precisión y sensibilidad de los clasificadores. En particular, la implementación de Kraken2 en conjunto con Bracken y bases derivadas de GTDB-TK ha mostrado un desempeño superior, lo que subraya la necesidad de metodologías adaptadas a la complejidad del microbioma del suelo, incluyendo bacterias y hongos (EDWIN *et al.*, 2024). Por otro lado, WASCHULIN *et al.* (2021) evaluaron el potencial biosintético de bacterias del suelo antártico no cultivadas. Para ello, utilizaron la herramienta Kraken2 junto con la base de datos r89 del Genome Taxonomy Database

(GTDB) para clasificar secuencias de lectura larga. Se identificaron 1417 clústeres de genes biosintéticos (BGCs) pertenecientes a una amplia variedad de bacterias del suelo, incluyendo filos difíciles de cultivar como Verrucomicrobiota, Acidobacteriota y Gemmatimonadota. También se destacó el potencial biosintético de linajes poco explorados de Actinobacteriota (como Thermoleophilia y Acidimicrobiia) y Proteobacteria (orden UBA7966).

En un estudio más reciente que aporta una visión más actual, QU *et al.* (2024) analizaron mediante metagenómica la composición y funcionalidad de comunidades microbianas del suelo en cuatro sitios de la Antártida (Devil Island, King George Island, Marambio Station y Seymour Island). Para la clasificación taxonómica emplearon Kraken2 y Bracken, mientras que la anotación funcional de genes no redundantes se realizó con Diamond (KEGG, EggNOG y CARD) y Emapper.

Los resultados mostraron que en King George Island predominaban bacterias asociadas a la promoción del crecimiento vegetal y a la degradación de contaminantes como PAHs, mientras que en Marambio Station se observó una reducción de las bacterias vinculadas a la oxidación/reducción de hierro y azufre. Además, se identificaron 94 genes de resistencia a antibióticos (ARGs) pertenecientes a 15 clases (relacionados con aminoglucósidos, β-lactamasas, metiltransferasas de rRNA, eflujo de antibióticos, resistencia regulada por genes y transportadores ABC) influenciados principalmente por actividades antrópicas.

Estos trabajos demuestran que los estudios metagenómicos en la Antártida no solo permiten caracterizar la diversidad microbiana, sino también descubrir nuevas adaptaciones genéticas y rutas metabólicas con aplicaciones biotecnológicas.

Sin embargo, la mayoría de las investigaciones se han enfocado principalmente en bacterias, mientras que los estudios dirigidos específicamente a hongos continúan siendo escasos, lo que resalta la necesidad de ampliar el conocimiento hacia este grupo de organismos igualmente relevantes en la dinámica de los ecosistemas antárticos.

1.2 Justificativa

Considerando la relevancia ecológica y el potencial biotecnológico inherente a los hongos antárticos, específicamente su capacidad para producir enzimas, así como las propiedades de estas para adaptarse al frío, se abre una fascinante perspectiva para la aplicación de estos microorganismos en distintos campos biotecnológicos (WENTZEL *et al.*,

2019). Este estudio no solo busca llenar vacíos de conocimiento en la comprensión de la biodiversidad antártica, sino que también tiene como objetivo explorar el potencial biotecnológico de estos microorganismos en los contextos ambientales e industriales.

La gran diversidad de microorganismos presentes en ambientes extremos, representa una valiosa fuente de moléculas con un alto potencial biotecnológico. El enfoque de este estudio se alinea con el Objetivo 9 de La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible de la ONU, el cual establece una visión transformadora hacia la Industria, Innovación e Infraestructura, por lo que se busca aumentar la investigación científica y mejorar la capacidad tecnológica de los sectores industriales de todos los países, en particular los países en desarrollo, fomentando la innovación y aumentando considerablemente, de aquí a 2030, el número de personas que trabajan en investigación y desarrollo por millón de habitantes.

Los hongos, foco central de esta investigación, han demostrado ser organismos versátiles y valiosos en el desarrollo de alternativas para resolver desafíos en diversos sectores productivos. Su potencial competitivo abarca desde aplicaciones agrícolas, alimenticias y farmacéuticas hasta su uso en la industria y la producción de biocombustibles, lo que refuerza la importancia y relevancia de este estudio en el ámbito industrial (SUÁREZ; PEÑARANDA, 2021).

Al mismo tiempo, la metagenómica ha emergido como una herramienta fundamental para explorar la biodiversidad microbiana en ambientes extremos, donde gran parte de los microorganismos no pueden ser cultivados. Su aplicación permite no solo caracterizar la diversidad taxonómica, sino también identificar genes y rutas metabólicas con valor biotecnológico. Por tanto, integrar métodos dependientes e independientes de cultivo en el estudio de hongos antárticos resulta altamente relevante, ya que permite ampliar el conocimiento científico sobre este ecosistema y explorar nuevas oportunidades para el aprovechamiento de sus recursos en aplicaciones de interés ambiental, médico e industrial.

1.3 Pregunta norteadora

¿Cuál es el potencial enzimático, la diversidad taxonómica y las funciones metabólicas de los hongos antárticos obtenidos mediante enfoques dependientes e independientes de cultivo en dos ambientes con condiciones geoquímicas contrastantes?

1.4 Hipótesis

Los hongos antárticos provenientes de ambientes con condiciones geoquímicas y contextos ambientales contrastantes presentan diferencias en su diversidad y en su capacidad para producir enzimas adaptadas al frío. Se espera que el enfoque combinado de aislamiento tradicional y metagenómica permita identificar hongos con actividades enzimáticas relevantes y anotaciones funcionales asociadas a procesos metabólicos de interés biotecnológico.

2 OBJETIVOS

2.1 General

- evaluar el potencial biotecnológico de hongos antárticos provenientes de suelos de la Isla Decepción (*Whalers Bay*) y la Isla Rey Jorge (Punta Hennequin), mediante enfoques dependientes e independientes de cultivo.

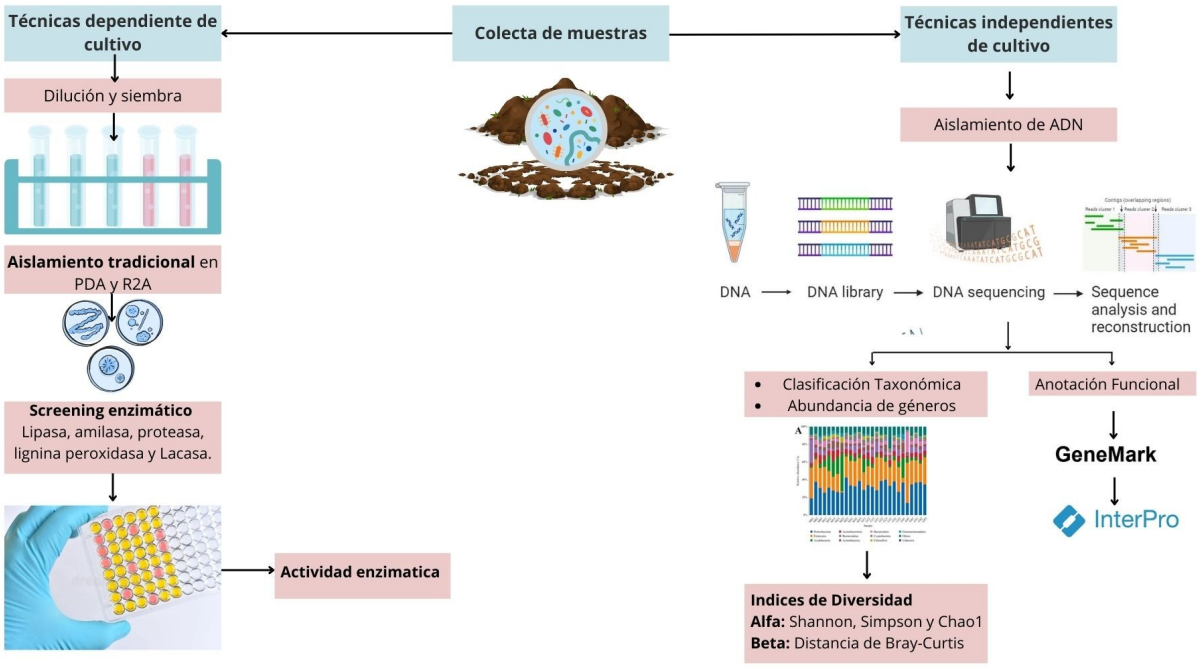
2.2 Específicos

- aislar y conservar cepas de hongos a partir de muestras de suelo antártico recolectadas en *Whalers Bay* y Punta Hennequin;
- evaluar la actividad enzimática (lipasa, amilasa, proteasa, lignina peroxidasa y lacasa) de los hongos aislados;
- analizar las características fisicoquímicas de las muestras de suelo recolectadas;
- secuenciar los aislados que presenten mayor actividad enzimática para su identificación taxonomica; y
- analizar la diversidad microbiana y las tendencias funcionales de las comunidades presentes en los suelos mediante enfoques metagenómicos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

La presente investigación combinó enfoques dependientes e independientes de cultivo con el objetivo de caracterizar la diversidad fúngica de suelos antárticos y evaluar su potencial biotecnológico. El flujo general de trabajo se resume en la figura 4, donde se ilustran las etapas principales del estudio: desde la colecta de muestras, el aislamiento de cepas y ensayos enzimáticos, hasta el análisis metagenómico para la estimación de la diversidad taxonómica y actividad funcional. Esta estrategia integrada permitió una aproximación más completa a la bioprospección de hongos antárticos.

Figura 4. Flujo de trabajo a seguir en la presente investigación, donde se muestran de manera general los diferentes enfoques y las técnicas

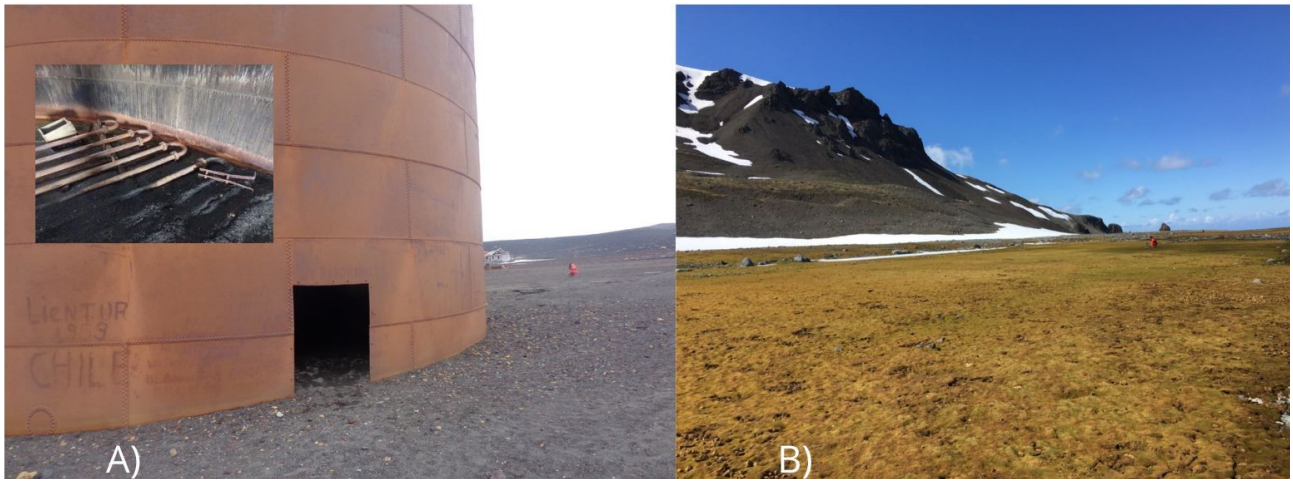


Fuente: autoría propia.

3.1 Colecta de muestras

Las muestras fueron recolectadas en *Whalers Bay* en la isla Decepción y en Punta Hennequin de la isla Rey George (Figura 5), pertenecientes a las islas Shetland del Sur, durante el verano polar austral del año 2022 como parte de las actividades científicas del Programa Antártico Brasileño 2022/2023 (OPERNTAR XLI).

Figura 5. Sitios de muestreo



Nota*:* A) Tanques de hierro en *Whalers Bay* (Isla Decepción), suelo impactado por actividad humana histórica y procesos de corrosión. B) Punta Hennequin (Isla Rey George), suelo con cobertura vegetal dominada por musgos y líquenes, representativo de ecosistemas antárticos menos perturbados.
Fuente: OPERNTAR XLI, 2022.

En la tabla 3 se detallan el origen y el tipo de muestra recolectada. Las muestras de suelo se recolectaron a una profundidad aproximada de 10 cm con una espátula estéril y se colocaron en bolsas Whirl-pack estériles (Nasco, Ft. Atkinson, Wisconsin), congeladas a -20 °C. Las muestras fueron recolectadas por triplicado.

Tabla 3. Origen y características de las muestras de suelo recolectadas en la Antártida

Fecha de colecta	Origen	Lugar	Localización GPS	Tipo de muestra	Código asignado
12/12/2022	Antártica	*Whalers Bay*-Isla Decepción	S62°58’43.1”W060°33’33.9”	Biofilme con hierro	WB
08/12/2022	Antártica	Punta Hanequin-Isla Rey George	S62°07'22.9”W58°23’46.1”	Suelo debajo de musgo	PH

Fuente: autoría propia.

3.2 Análisis Fisicoquímicos de suelo

Los análisis fisicoquímicos de las muestras de suelo fueron realizados por la empresa contratada Teclab Laboratórios Ambientais. Las determinaciones incluyeron la medición de nitrógeno total, carbono orgánico total (COT), pH, y la concentración de elementos traza como azufre (S), hierro (Fe), cobre (Cu), plomo (Pb) y cromo (Cr). Además, se evaluó la presencia de contaminantes orgánicos, incluyendo compuestos del grupo BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) e hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs).

3.3 Enfoque dependiente de cultivo

3.3.1 Aislamiento de hongos

Para el aislamiento de hongos, se pesaron 5 gramos de suelo y se suspendieron en 50 mL de agua destilada estéril. A partir de esta suspensión, se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-4}. Los aislamientos se realizaron por duplicado para cada muestra y para cada dilución.

De cada dilución, se inocularon 50 µL sobre placas de Petri que contenían medios de cultivo, y se esparcieron uniformemente con un asa de vidrio estéril para favorecer el crecimiento disperso de colonias. Los medios utilizados fueron Potato Dextrose Agar (PDA, 39 g L^{-1}) y R2A (18.2 g L^{-1}), ambos suplementados con cloranfenicol (250 mg mL^{-1}) para inhibir el crecimiento bacteriano.

El medio PDA está compuesto por agar (15 g L^{-1}), dextrosa (20 g L^{-1}) y extracto de papa (4 g L^{-1}). Por su parte, el medio R2A es oligotrófico y contiene extracto de levadura (0.5 g L^{-1}), peptona de proteosa (0.5 g L^{-1}), hidrolizado de caseína (0.5 g L^{-1}), glucosa (0.5 g L^{-1}), almidón soluble (0.5 g L^{-1}), piruvato de sodio (0.3 g L^{-1}), hidrogenofosfato dipotásico (0.3 g L^{-1}), sulfato de magnesio anhidro (0.024 g L^{-1}) y agar-agar (15 g L^{-1}).Las placas fueron incubadas a 15 °C durante 15 días. Posteriormente, las colonias fúngicas recuperadas fueron subcultivadas en PDA hasta obtener cultivos puros.

3.3.2 Screening enzimático cualitativo

Todos los hongos aislados fueron sometidos a ensayos en placa para evaluar su capacidad de producir enzimas. Los aislados fueron cultivados en PDA, y luego de 14 días de incubación, se cortaron fragmentos de 1 cm^2 de la periferia del micelio, los cuales se transfirieron a los medios específicos para cada prueba enzimática.

Posteriormente, los cultivos fueron incubados a 15 °C durante 14 días. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.

3.3.2.1 Evaluación de la decoloración de RBBR en medio sólido

La capacidad de decoloración de los hongos fue evaluada utilizando el colorante Remazol Brilliant Blue R (RBBR), un compuesto derivado del antraceno que actúa como

análogo de la lignina y permite identificar la producción de enzimas ligninolíticas mediante cambios de color en el medio.

Para el ensayo, se prepararon cajas de Petri con medio PDA suplementado con RBBR a una concentración de 500 mg L^{-1}. Se inocularon tres discos de micelio (0,5 cm de diámetro) por cepa, y las placas fueron incubadas a 15 °C durante 14 días. La formación de halos de decoloración alrededor del crecimiento micelial se interpretó como un indicador positivo de actividad ligninolítica (DA SILVA *et al.*, 2008).

3.3.2.2 Evaluación de la decoloración de RBBR en medio líquido

Para la prueba de decoloración en medio líquido, se seleccionaron los hongos filamentosos que presentaron una mayor decoloración en el medio sólido. Se cultivaron 3 discos de micelio de cada hongo en 100 mL de medio PDB durante 48 horas, bajo agitación a 150 rpm a 15°C. Después, se agregó una solución concentrada del colorante RBBR al medio de cultivo, la concentración final de RBBR fue 0.5 g mL^{-1}.

Se tomaron 1 ml de muestra de cada cultivo a los 4, 8 y 12 días. Las muestras fueron centrifugadas a 12000 rpm durante dos minutos. Posterior a ello se procedió a diluir el sobrenadante 10 veces y analizar la absorbancia mediante espectrofotometría a 580 nm. La eficiencia de la decoloración del RBBR por los hongos analizados se determinó en función de la reducción de la absorbancia (BERNAL *et al.*, 2021).

$$Decoloración(\%) = \frac{A\lambda inicial - A\lambda final}{A\lambda inicial} \times 100$$

En donde Aλ inicial = absorbancia inicial y es la Aλ final = absorbancia final

Los experimentos de control se realizaron utilizando medio PDB, con inóculo, libre de RBBR (blanco) y medio PDB libre de células con adición de RBBR. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. El matraz no inoculado que contiene el colorante se utiliza como referencia para corregir la desaparición abiótica del color y el medio inoculado sin colorante se utilizó como blanco, ya que algunos de los hongos pueden producir pigmentos en el medio.

3.3.2.3 Evaluación cuantitativa de la decoloración de RBBR y determinación del peso seco

Los hongos que mostraron mejor desempeño en el ensayo de decoloración con RBBR en medio líquido fueron seleccionados para el análisis de peso seco. Para ello, se utilizó la misma metodología del ensayo previo, inoculando los cultivos en medio líquido suplementado con RBBR, pero en este caso se establecieron tres tiempos de incubación: 4, 8 y 12 días, con tres réplicas por tiempo.

Para la evaluación de la decoloración, se tomó 1 mL del cultivo a cada tiempo, el cual fue centrifugado a 12.000 rpm durante 2 minutos. El sobrenadante se diluyó 1:10 en agua destilada estéril y se midió la absorbancia a 580 nm utilizando un espectrofotómetro.

Para la determinación del peso seco, las células recuperadas fueron filtradas utilizando un filtro de papel con poro de 0,22 µm previamente secado y pesado. El caldo de cultivo se filtró al vacío, y las células retenidas fueron secadas en estufa a 70 °C durante 24 horas. Finalmente, el filtro fue pesado nuevamente, y la masa seca fúngica se calculó por la diferencia de peso antes y después de la filtración.

3.3.2.4 Guayacol

Se empleó este sustrato para detectar la actividad de peroxidasas, una enzima oxidativa indicativa de actividad ligninolítica. La oxidación del guayacol genera una coloración marrón rojiza, lo que indica actividad enzimática.

Para el ensayo, se preparó el medio PDA, el cual fue esterilizado por autoclave. Una vez enfriado, se adicionaron 425 µL de guayacol al 99 %, previamente filtrado a través de un filtro esterilizante para evitar contaminación. Posteriormente, se inocularon discos de micelio de 0,5 cm de diámetro, tomados del borde de colonias cultivadas durante 7 días a 15 °C. Se consideraron resultados positivos aquellos aislados que presentaron una coloración marrón alrededor de la colonia, como resultado de la oxidación del guayacol (BERNAL *et al.*, 2021).

3.3.2.5 Lipasa

Los aislados de hongos filamentosos fueron cultivados en medio RO-PDA. Para su preparación, se adicionaron 31,25 mL de aceite de oliva y 10 mL de una solución de rodamina B (1,0 mg mL^{-1}) al medio, y la mezcla fue agitada vigorosamente antes de ser

vertida en placas de Petri (KUMAR *et al.*, 2012). Posteriormente, se inocularon discos de micelio de 0,5 cm de diámetro y se incubaron a 15 °C durante 7 días. La producción de lipasa fue evaluada bajo luz ultravioleta; la aparición de halos fluorescentes alrededor de las colonias fue considerada indicativa de hidrólisis del aceite, confirmando así la actividad lipolítica.

3.3.2.6 Proteasa

La detección de proteasas se realizó utilizando un medio compuesto por leche desnatada (20 g L^{-1}), agar (20 g L^{-1}) y tampón fosfato 0,2 M pH 7. Se inocularon discos de micelio de 0,5 cm de diámetro sobre las placas y se incubaron a 15 °C durante 7 días. La presencia de halos de clarificación alrededor de las colonias se consideró como resultado positivo para la actividad proteolítica (WENTZEL *et al.*, 2019).

3.3.2.7 Amilasa

Los aislados fueron cultivados en medio SPDA (Starch Potato Dextrose Agar), preparado con 1 % de almidón soluble, 5 g L^{-1} de glucosa y 15 g L^{-1} de agar en infusión de papa. Se inocularon discos de micelio de 0,5 cm de diámetro y se incubaron durante 7 días a 15 °C. Finalizado este periodo, se adicionó a la superficie del medio una solución de yodo al 1 % en yoduro de potasio al 2 %. La formación de un halo transparente alrededor de las colonias indicó la hidrólisis del almidón, lo que se interpretó como resultado positivo para actividad amilasa (ANDUALEM, 2014).

3.3.3 Ensayos cuantitativos de actividad enzimática

3.3.3.1 Actividad amilasa

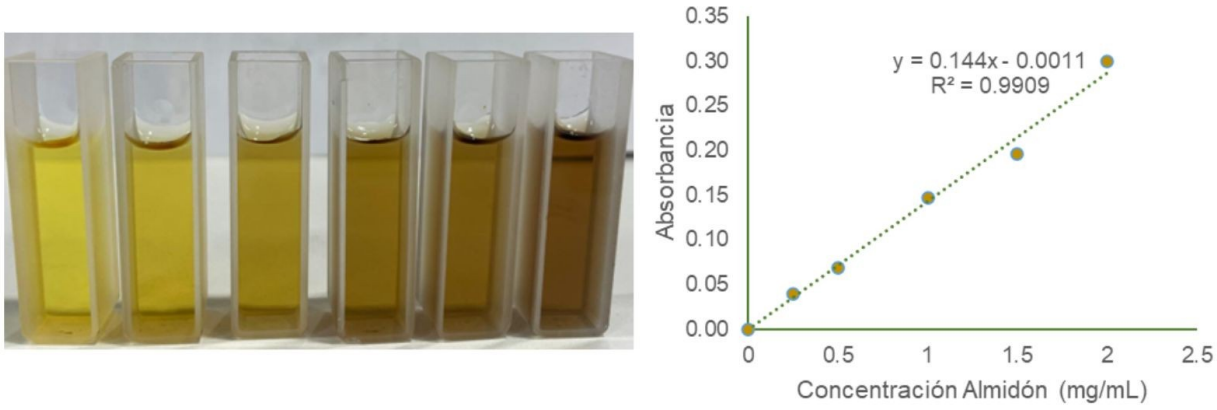
Los ensayos para determinar la actividad enzimática se llevaron a cabo de acuerdo a OTTONI *et al.* (2020) con modificaciones. Se realizaron cultivos líquidos de los hongos que mostraron mejor actividad amilasa en el ensayo de placa (mayor halo). Para ello se inoculo 1 disco de micelio de 0,5 cm de diámetro en 50 mL de SPBD (1% almidón, 5 g L^{-1} de glucosa, 15 g L^{-1} de caldo de batata) en un matraz de 250 mL. Lo matraces fueron incubados en un agitador rotatorio a 150 rpm a 15 °C durante 12 días.

El caldo de cada cultivo se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se recogió como extracto enzimático bruto. Este extracto se usó para caracterizar la actividad enzimática.

Para determinar la actividad enzimática, se combinaron 50 µL de extracto enzimático con 1 mL de solución de almidón al 1% y se incubaron a 20 °C durante 10 minutos. La reacción fue detenida añadiendo 1 mL de HCl 0,1 N. Posteriormente, se preparó una dilución adicional mezclando 50 µL de la solución acidificada con 1 mL de HCl 0,1 N. Finalmente, se añadieron 50 µL de la solución diluida a 1 mL de una solución de yodo (0,05% de yodo en 0,5% de KI). La absorbancia se midió a 660 nm y la ecuación de la recta ($y = 0{,}144x - 0{,}0011$; $R^2 = 0{,}9909$) se empleó para el cálculo de la actividad amilasa expresada en unidades por decilitro (U dL^{-1}).

La curva estándar se elaboró empleando concentraciones de almidón en un rango de 0 a 2,0 mg mL^{-1}, como se puede observar en la figura 6. El mismo procedimiento se realizó con 50 µL de agua destilada en lugar del extracto enzimático, para servir como control negativo.

Figura 6. Curva de calibración estándar de almidón



Nota: Izquierda: soluciones estándar de almidón en un rango de concentración de 0 a 2,0 mg mL^{-1}. Derecha: relación lineal entre la absorbancia y la concentración de almidón, utilizada para el cálculo de la actividad enzimática.

Fuente: autoría propia.

La actividad de amilasa se definió como la cantidad de enzima necesaria para disminuir la intensidad del color azul de la solución de almidón y yodo en un 1% bajo las condiciones del ensayo.

3.3.3.2 Actividad lipasa

Se realizaron cultivos líquidos de los hongos que mostraron mejor actividad lipasa en el ensayo de placa. Para la obtención de los extractos enzimáticos, se transfirieron dos discos de micelio (0,5 cm de diámetro), tomados de la periferia de las colonias, a un medio de cultivo específico para la inducción de lipasas. El medio estuvo compuesto por 20 mL L^{-1} de aceite de oliva (no esterilizado), 5 g L^{-1} de peptona, 3 g L^{-1} de extracto de levadura, 1 g L^{-1} de sulfato de amonio y 1 g L^{-1} de nitrato de sodio. Los cultivos se realizaron en frascos Erlenmeyer de 150 mL, con un volumen de trabajo de 50 mL, y fueron incubados durante 14 días a 15 °C con agitación constante a 150 rpm. Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado. Finalizado el período de incubación, los extractos enzimáticos fueron recuperados mediante filtración al vacío utilizando membranas de 0,22 µm, con el fin de separar las células fúngicas del sobrenadante enzimático.

La actividad lipasa fue determinada según el protocolo descrito por YANG *et al.* (2002), utilizando como sustrato sintético el p-nitrofenil palmitato (pNPP). La hidrólisis del pNPP se evaluó mediante la detección espectrofotométrica del ion p-nitrofenolato liberado.

El pNPP fue inicialmente solubilizado en 0,5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) y luego diluido hasta una concentración final de 0,5 mM utilizando tampón fosfato de sodio 50 mM (pH 7,0), conteniendo 0,5% de Triton X-100.

La reacción enzimática se llevó a cabo en placas de 96 pocillos, añadiendo 90 µL del sustrato preparado y 10 µL de la enzima previamente diluida a cada pocillo. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 1 hora. Posteriormente, la reacción fue detenida mediante la adición de 100 µL de 1-propanol, y la absorbancia fue medida inmediatamente a 405 nm en un lector de microplacas. La actividad enzimática fue expresada en unidades de lipasa (U), definiéndose una unidad como la cantidad de enzima capaz de liberar 1 µmol de p-nitrofenol por minuto bajo las condiciones del ensayo.

3.3.3.3 Actividad lignina peroxidasa

Las muestras que presentaron mejores resultados en el ensayo de descoloración de RBBR fueron seleccionadas para otra etapa de análisis, enfocada en la cuantificación de la actividad de Lignina Peroxidasa (LiP), mediante un ensayo espectrofotométrico adaptado del método descrito por ARORA; GILL (2001).

Para la obtención de los extractos enzimáticos, se cultivaron hongos filamentosos transfiriendo dos discos de micelio (0,5 cm de diámetro), tomados de la periferia de las colonias, a frascos que contenían 100 mL de medio de Extracto de Malta al 3%. Las muestras fueron incubadas a 15 °C bajo agitación constante (150 rpm) durante 14 días. Todos los cultivos se realizaron por triplicado. Finalizado el período de incubación, los extractos enzimáticos fueron separados del micelio mediante filtración al vacío utilizando membranas de 0,22 µm, obteniendo así sobrenadantes libres de células fúngicas.

La actividad enzimática fue evaluada a través de la oxidación de veratryl alcohol a veratraldehído, en presencia de peróxido de hidrógeno. La mezcla de reacción estándar estuvo compuesta por 1 mL de tampón de tartarato de sodio 125 mM (pH 3,0), 500 µL de veratryl alcohol 10 mM (Sigma-Aldrich®), 500 µL de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 2 mM, y 500 µL del extracto enzimático.

La reacción fue iniciada con la adición de H_2O_2, y el progreso de la oxidación se monitoreó midiendo el aumento de absorbancia a 310 nm, correspondiente a la formación de veratraldehído. Una unidad de actividad enzimática fue definida como la cantidad de enzima capaz de producir 1 µmol de veratraldehído por minuto por mililitro de extracto. Adicionalmente, la actividad específica fue expresada como unidades enzimáticas por miligramo de proteína.

3.3.3.4 Actividad lacasa

La producción de lacasa fue determinada mediante un ensayo espectrofotométrico basado en la oxidación del sustrato ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico ácido)), siguiendo una adaptación del método descrito por BUSWELL; CAI; CHANG (1995).

Para la obtención de los extractos enzimáticos, se cultivaron los hongos transfiriendo dos discos de micelio (0,5 cm de diámetro), tomados de la periferia de las colonias, a frascos Erlenmeyer que contenían 100 mL de medio de Extracto de Malta al 3%. Las muestras fueron incubadas bajo agitación constante (150 rpm) a 15 °C durante un período de 14 días. Los cultivos se realizaron por triplicado.

Finalizado el período de incubación, los extractos enzimáticos fueron recuperados mediante filtración al vacío utilizando papel de filtro de 0,22 µm, con el fin de eliminar las células fúngicas.

Para el ensayo de actividad lacasa, se mezclaron 1,8 µL del extracto enzimático con 900 µL de tampón de acetato y 300 µL de solución de ABTS. Se registró una lectura inicial de

absorbancia inmediatamente después de la adición del sustrato, y una segunda lectura tras una incubación a 28 °C durante 10 minutos. La oxidación del ABTS fue cuantificada midiendo el incremento en la absorbancia a 420 nm.

La actividad lacasa fue expresada como la cantidad de enzima capaz de oxidar 1 µmol de ABTS por minuto, considerando un coeficiente de extinción molar para el ABTS oxidado de $3{,}6 \times 10^5\ mol^{-1}\ cm^{-1}$.

3.3.4 Identificación molecular de aislados promisorios

La identificación molecular de los aislados fúngicos de interés fue realizada por la empresa Macrogen (Corea del Sur). Para ello, se utilizó la región espaciadora interna transcrita (ITS), empleando los iniciadores ITS5 e ITS4.

Las secuencias obtenidas fueron analizadas mediante alineamientos con secuencias disponibles en bases de datos públicas, utilizando el algoritmo BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool for nucleotides), disponible en el portal del GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov). La identificación de los aislados se basó en el mayor porcentaje de similitud con secuencias de referencia previamente depositadas.

Posteriormente, las secuencias fueron alineadas utilizando el método CLUSTAL W, y los análisis evolutivos se realizaron con el *software* MEGA X, aplicando el modelo de sustitución de Kimura de dos parámetros (KIMURA, 1980). La reconstrucción filogenética fue llevada a cabo mediante el algoritmo Neighbor-Joining (SAITOU; NEI, 1987), con un bootstrap de 1000 réplicas.

3.3.5 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el *software* PAST v5 con el objetivo de evaluar diferencias significativas en la producción enzimática entre los distintos aislados y condiciones experimentales. Se aplicaron pruebas paramétricas como ANOVA de una y dos vías, así como pruebas *post hoc* de Tukey para comparaciones múltiples. Cuando fue necesario, se emplearon pruebas no paramétricas, como el test de Dunn con corrección de Bonferroni, para asegurar la validez de los resultados en casos donde no se cumplieron los supuestos de normalidad. El nivel de significancia adoptado en todos los análisis fue del 5% ($p < 0{,}05$).

3.4 Enfoque independiente de cultivo (metagenómica)

3.4.1 Extracción de ADN metagenómico

La extracción de ADN genómico se llevó a cabo utilizando el kit DNeasy PowerSoil Pro Kit (Qiagen), siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante. Para cada muestra, se utilizaron 250 mg de suelo y 800 µL de la solución CD1, que contiene agentes líticos para la disrupción celular. La mezcla fue homogeneizada vigorosamente mediante vórtex. Posteriormente, cada muestra fue transferida a un tubo PowerBead Pro y sometida a agitación en vortex durante 10 minutos. Luego, los tubos fueron centrifugados a 15.000 × g durante 1 minuto, y se recolectó el sobrenadante (aproximadamente 500–600 µL) en tubos Eppendorf de 2 mL. Se añadieron 200 µL de la solución CD2 al sobrenadante y se realizó un vortex breve. Tras una nueva centrifugación a 15.000 × g durante 1 minuto, se transfirieron aproximadamente 700 µL del sobrenadante a un nuevo tubo, evitando arrastrar el pellet. A continuación, se agregaron 600 µL de la solución CD3 y se realizó nuevamente un vortex breve. Se cargaron 650 µL del lisado en una columna de filtración MB, la cual fue centrifugada a 15.000 × g durante 1 minuto. El sobrenadante fue descartado, y se continuó con las etapas de lavado y elución utilizando las soluciones EA, C5 y C6, según las instrucciones del kit. Finalmente, el ADN purificado fue recolectado y almacenado a temperaturas entre −30 °C y −15 °C para su conservación hasta su uso en análisis posteriores.

3.4.2 Secuenciación

Las muestras de ADN extraído fueron enviadas al Laboratório de Análises Genômicas e Biotecnologia de la empresa biotecnológica LagBio, ubicada en Toledo, Paraná (Brasil), para su procesamiento y secuenciación.

La secuenciación de los genomas se realizó mediante la estrategia *shotgun*, utilizando la plataforma Illumina con corrida paired-end.

3.4.3 Análisis bioinformático

Los datos genómicos obtenidos fueron evaluados inicialmente mediante la herramienta FASTQC (BABRAHAM BIOINFORMATICS., 2011), con el objetivo de verificar la calidad de las secuencias brutas. Posteriormente, las secuencias fueron procesadas con

el programa Trimmomatic, utilizado para realizar el recorte de regiones de baja calidad, garantizando así la obtención de lecturas limpias y de alta calidad para los análisis posteriores.

Tras esta etapa de preprocesamiento, los archivos fueron sometidos a un análisis bioinformático exhaustivo, siguiendo una serie de pasos descritos a continuación.

3.4.3.1 Clasificación taxonómica (Kraken2 + Bracken)

La clasificación taxonómica de las lecturas metagenómicas fue realizada utilizando el programa Kraken2, el cual permite una asignación rápida y precisa mediante el análisis de k-mers y comparación directa con una base de datos de referencia (WOOD; SALZBERG, 2014). Para este análisis, se utilizó una base de datos personalizada enfocada en hongos, construida a partir de secuencias genómicas fúngicas disponibles en el repositorio del NCBI.

Una vez obtenidas las asignaciones preliminares con Kraken2, los resultados fueron refinados mediante el programa Bracken (Bayesian Reestimation of Abundance with KrakEN), que mejora la estimación de la abundancia relativa ajustando la asignación de lecturas a nivel de filo, género y especie (LU *et al.*, 2017). Esta herramienta permitió una representación más precisa de la diversidad fúngica.

Para organizar, visualizar y explorar los resultados taxonómicos de manera interactiva, se utilizó la herramienta Pavian, que facilitó la interpretación de las salidas de Bracken. Además, se empleó RStudio para la generación de gráficos de abundancia relativa a distintos niveles taxonómicos, lo que permitió comparar la composición microbiana entre las distintas muestras.

3.4.3.2 Análisis de diversidad microbiana (índices alfa y beta)

Los análisis de diversidad alfa y beta fueron realizados en el entorno estadístico RStudio (R CORE TEAM, 2024), empleando las librerías vegan. Las lecturas metagenómicas obtenidas mediante el enfoque *shotgun* fueron clasificadas taxonómicamente a nivel de género utilizando Kraken2 y refinadas con Bracken, generando una matriz de abundancias relativas a nivel de género. Estas abundancias fueron transformadas y normalizadas antes de los análisis de diversidad.

La diversidad alfa fue estimada mediante el cálculo de los índices de Shannon, Simpson y Chao1. El índice de Shannon (diversity(..., index = "shannon")) evalúa la riqueza y equidad de las especies; el índice de Simpson (diversity(..., index = "simpson")) mide la probabilidad de coincidencia entre individuos al azar dentro de una muestra; y el estimador Chao1, obtenido con la función estimateR(...), proporciona una estimación de la riqueza no observada (DOYTCHINOV; DIMOV, 2022; ESCALANTE ESPINOSA, 2003).

Para el análisis de diversidad beta, se aplicó la distancia de Bray–Curtis. Esta métrica de disimilitud fue utilizada para cuantificar las diferencias en la composición de las comunidades entre muestras, tomando en cuenta tanto la presencia como la abundancia relativa de los taxones (BRAY; CURTIS, 1957).

3.4.3.3 Diversidad funcional de la comunidad encontrada en los datos metagenómicos

La diversidad funcional del micobioma fue evaluada a partir de los datos metagenómicos obtenidos en Punta Hennequin y *Whalers Bay*. Inicialmente, las lecturas metagenómicas se sometieron a anotación funcional utilizando las herramientas *MetaGeneMark* e *InterPro*, lo que permitió identificar un conjunto limitado de funciones (10 rutas metabólicas principales). Dado que las enzimas de interés específicas (lipasa, amilasa, proteasa, lacasa y lignina peroxidasa) no fueron detectadas directamente en los datasets, se realizó una búsqueda complementaria en bases de datos públicas (NCBI y UniProt) para asociar estas enzimas a los géneros fúngicos identificados en cada sitio. El modo trófico y el guild ecológico correspondiente a cada género fueron obtenidos mediante la plataforma *FUNGuild* <https://www.funguild.org>.

Con esta información, se construyeron redes bipartitas funcionales donde los nodos representan géneros fúngicos y enzimas, mientras que los enlaces indican relaciones funcionales compartidas entre taxones. Las redes fueron generadas en RStudio empleando los paquetes tidyverse, igraph, ggraph y tidygraph, y se calcularon las métricas de grado (*degree*) e intermediación (*betweenness*) como indicadores de centralidad funcional, con el fin de identificar los géneros con mayor conectividad e influencia estructural dentro de las comunidades. Esta aproximación permitió inferir tendencias funcionales del micobioma fúngico en ambos sitios, integrando la evidencia derivada del análisis metagenómico con la información funcional reportada en bases de datos especializadas.

3.4.3.4 Análisis funcional predictivo (GeneMark)

Para el análisis funcional predictivo, se llevó a cabo previamente un ensamblaje metagenómico utilizando el programa metaSPAdes, con el objetivo de obtener fragmentos de mayor longitud (contigs) que facilitaran la predicción de genes. A partir de estos contigs ensamblados, se realizó la predicción de genes mediante la herramienta GeneMark, utilizando el modelo específico para metagenomas eucariotas (MetaGeneMark). Se utilizó una base de datos adaptada a organismos eucariotas, lo cual permitió una mejor predicción funcional en contextos de microbiomas fúngicos.

Posteriormente, las secuencias génicas predichas fueron anotadas funcionalmente utilizando la plataforma *InterPro* <https://www.ebi.ac.uk/*InterPro*>. Este recurso usa bases de datos como CATH-Gene3D, la base de datos de dominios conservados (CCD), HAMAP, NCBIFAM, PANTHER, PIRSF, Pfam, PRINTS, PROSITE, la base de datos de enlace estructura-función (SFLD), SMART y SUPERFAMILY (BLUM *et al.*, 2024), lo que permitió una caracterización más robusta de las funciones moleculares presentes en el microbioma analizado.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis de la comunidad fúngica mediante métodos dependientes de cultivo

4.1.1 Aislamiento de hongos de suelo antártico

A partir de las muestras de suelo colectadas en las islas Decepción, *Whalers Bay* (WB) y Punta Hennequin (PH), Isla Rey George, se logró recuperar 53 cepas de hongos filamentosos. Se obtuvieron 31 linajes fúngicos de la muestra WB y 22 linajes de PH. A continuación, en la tabla 4 se presenta el número de hongos aislados en cada medio de cultivo utilizado y el origen de cada muestra.

Tabla 4. Cantidad de hongos aislados en los medios de cultivo PDA y R2A (Medio nutritivo y medio oligotrófico)

Localidad	Medio de Cultivo	Número de hongos recuperados
Punta Hennequin	PDA	15
Punta Hennequin	R2A	7
Whalers Bay	PDA	17
Whalers Bay	R2A	14
	Total	53

Fuente: autoria propia.

El 58.5 % de los hongos aislados fueron recuperados con el medio nutritivo PDA, siendo este el que recuperó la mayor cantidad de hongos. El PDA es un medio que proporciona una alta cantidad de carbohidratos y otros nutrientes, creando un ambiente favorable para el crecimiento de una mayor variedad y cantidad de hongos (BARNETT; HUNTER, 2010).

Contrariamente, el medio R2A es oligotrófico, pobre en nutrientes que puede no satisfacer las necesidades nutricionales de muchos hongos. Esto podría explicar por qué hubo una menor recuperación de hongos en este medio (41,5 %). Este medio es ideal para recuperar células estresadas y de crecimiento más lento (HURST; CRAWFORD, 2007).

Los sitios de muestreo presentan condiciones contrastantes, lo que pudo haber influenciado en el aislamiento de hongos. *Whalers Bay* tiene influencia volcánica y geotérmica (FIGUEREDO *et al.*, 2019), mientras que Punta Hennequin se caracteriza por tener densas alfombras de musgo que retienen la humedad. Aunque se esperaba una mayor recuperación en Punta Hennequin, los resultados mostraron más aislamientos en *Whalers Bay*, probablemente por la combinación de influencia geotérmica y actividad

humana histórica, que habría favorecido una comunidad microbiana más adaptada y resiliente (CENTURION *et al.*, 2022).

Estudios previos han reportado el aislamiento de hongos filamentosos en ambas islas. En la isla Rey George, DUARTE *et al.*, (2018) y su equipo aislaron 129 hongos filamentosos de 16 muestras acuáticas y terrestres. Así mismo, SANTOS; MEYER; SETTE (2020) recuperaron 309 linajes fúngicos de 19 géneros diferentes provenientes del glaciar Collins en esa región.

En *Whalers Bay*, HELD; BLANCHETTE (2017) estudiaron la diversidad de hongos asociados a las estructuras históricas hechas de madera, obteniendo 326 aislados fúngicos. De manera similar, en la Isla Decepción, CARLOS, (2022), reportó la recuperación de 16 hongos filamentosos.

Estos resultados corroboran que es posible el aislamiento de diferentes grupos de hongos filamentosos a partir de muestras en condiciones extremas de ambientes antárticos.

4.1.2 Características químicas del suelo

Las muestras de suelo provenientes de Punta Hennequin y *Whalers Bay* fueron sometidas a análisis químicos para determinar parámetros como carbono orgánico e inorgánico, nitrógeno total, pH, concentración de metales y presencia de hidrocarburos derivados del petróleo. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Análisis fisicoquímico de las muestras de origen antártico, los valores se encuentran expresados en mg kg^{-1}

Parámetros	PH	WB
Nitrógeno total	118,4	124,1
Sólidos de carbono	17971,1	16666,6
Carbono orgânico total	86,90%	76,40%
pH	6,8	7,3
Azufre	4268,1	1943,7
Hierro	11510,8	32354,8
Cobre	23,6	20,6
Plomo	3,8	2,6
Cromo	2,2	5
BTEX	ND*	ND*
HAPs	ND*	ND*

Nota: ND*: no detectado.

Fuente: autoría propia.

Se observó que el suelo bajo musgo de Punta Hennequin presentó un mayor contenido de carbono orgánico total (86,9 %) que el biofilm con hierro de *Whalers Bay* (76,4 %). Este elevado porcentaje indica que gran parte de los sólidos presentes son de origen orgánico, probablemente debido a aportes de estiércol de aves marinas, restos vegetales, exopolisacáridos y detritos, así como a la contribución de organismos fotosintéticos como cianobacterias y algas verdes (JUNG *et al.*, 2018). La alta concentración de carbono orgánico en la península Antártica ya ha sido destacada en estudios previos (BOCKHEIM; HAUS 2014).

La ligera diferencia entre ambos sitios puede estar relacionada con la presencia de vegetación en Punta Hennequin. Según PRATER *et al.* (2021), los suelos con cobertura vegetal contienen claramente mayores contenidos de carbono y nitrógeno.

En cuanto al nitrógeno total, ambos sitios mostraron valores similares (118,4 mg kg^{-1} en Punta Hennequin y 124 mg kg^{-1} en *Whalers Bay*), posiblemente relacionados con la actividad de organismos fijadores de nitrógeno, como cianobacterias y bacterias del suelo (GANZERT *et al.*, 2011; ROUSK; SORENSEN; MICHELSEN, 2017). Esta dinámica refleja la relación entre la cobertura vegetal, la acumulación de materia orgánica y el almacenamiento de nutrientes esenciales en estos ecosistemas (PRATER *et al.*, 2021).

Las mediciones de pH evidenciaron diferencias: el suelo de Punta Hennequin fue ligeramente ácido (6,8), mientras que el biofilm de *Whalers Bay* presentó un pH alcalino (7,3). Esto podría relacionarse con el origen de la muestra, según GARCIA-RIOS *et al.* (2021), los biofilms presentes en el hierro pueden alcalinizar el medio debido a reacciones de oxidación-reducción que convierten Fe(II) en Fe(III), consumiendo protones y elevando el pH. Este factor resulta clave, ya que condiciona la disponibilidad de nutrientes y la actividad microbiana.

En Punta Hennequin, se registró una concentración significativamente mayor de azufre (4268,1 mg kg^{-1}) en comparación con *Whalers Bay* (1943,7 mg kg^{-1}). Este enriquecimiento probablemente se deba a la actividad de microorganismos oxidadores del azufre y a la alta presencia de materia orgánica en este ambiente (WU *et al.*, 2021), que constituye una fuente natural de este elemento a través de proteínas y sulfolípidos (NELSON; COX, 2021), que al ser degradados son liberados a su entorno.

En contraste, la menor concentración de azufre en *Whalers Bay* podría reflejar tanto la limitada disponibilidad de materia orgánica como la acción de bacterias reductoras de

sulfato en condiciones de bajo oxígeno, lo que restringe la acumulación de azufre en el suelo (WU *et al.*, 2021).

El hierro fue marcadamente superior en *Whalers Bay* (32.354,8 mg kg^{-1}) respecto a Punta Hennequin (11.510,8 mg kg^{-1}), lo que podría explicarse por la influencia volcánica y la actividad humana histórica en la zona como el almacenamiento histórico de aceite de ballena en contenedores metálicos, lo cual puede haber contribuido a la acumulación de hierro en el biofilm (PÉREZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2025). En contraste, los suelos de Punta Hennequin, dominados por cobertura vegetal, presentan una matriz con mayor proporción de materia orgánica, que podría diluir la concentración relativa de minerales como el hierro (VEGA-GARCÍA *et al.*, 2020).

En cuanto a metales pesados, el cobre presentó valores similares en ambos sitios (23,6 mg g^{-1} en Punta Hennequin y 20,6 mg kg^{-1} en *Whalers Bay*), sin evidencia de contaminación significativa. Estos niveles son menores que los reportados en Isla Rey George (45,9 mg kg^{-1}) por TAPIA *et al.* (2021), y ligeramente inferiores a los encontrados por VEGA-GARCÍA *et al.* (2020) en Isla Decepción. La retención del cobre en el suelo está influenciada por factores como el pH, la materia orgánica y la presencia de óxidos metálicos (ARENAS-LAGO *et al.*, 2014; PIETRZAK; MCPHAIL, 2004), lo que podría explicar su distribución homogénea en ambos sitios.

El plomo fue más alto en Punta Hennequin (3,8 mg kg^{-1}) que en *Whalers Bay* (2,6 mg kg^{-1}), aunque ambos valores son considerablemente menores que los reportados en otras regiones antárticas (TAPIA *et al.*, 2021). Su baja concentración es consistente con estudios que indican escasa intervención antropogénica en suelos de la Antártida (VEGA-GARCÍA *et al.*, 2020; SIPOS *et al.*, 2005).

El cromo mostró una mayor presencia en *Whalers Bay* (5 mg kg^{-1}) frente a Punta Hennequin (2,2 mg kg^{-1}), posiblemente debido a residuos metálicos en descomposición. No obstante, estos valores son inferiores a los observados en Isla Rey George (25,4 mg kg^{-1}), lo que evidencia una gran variabilidad regional (TAPIA *et al.*, 2021).

Respecto a contaminantes orgánicos, no se detectaron BTEX ni hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en ninguna de las muestras, lo que sugiere la ausencia de impactos recientes por hidrocarburos. Sin embargo, estudios previos han reportado estos compuestos en aguas y sedimentos de zonas cercanas, asociados tanto a fuentes locales como al transporte atmosférico desde Sudamérica (SUTILLI *et al.*, 2019; SZOPIŃSKA *et al.*, 2019). La falta de detección en suelos podría deberse a la baja persistencia de estos

contaminantes en ambientes fríos, a la limitada movilidad tierra adentro o a diferencias en el tipo y profundidad de las muestras.

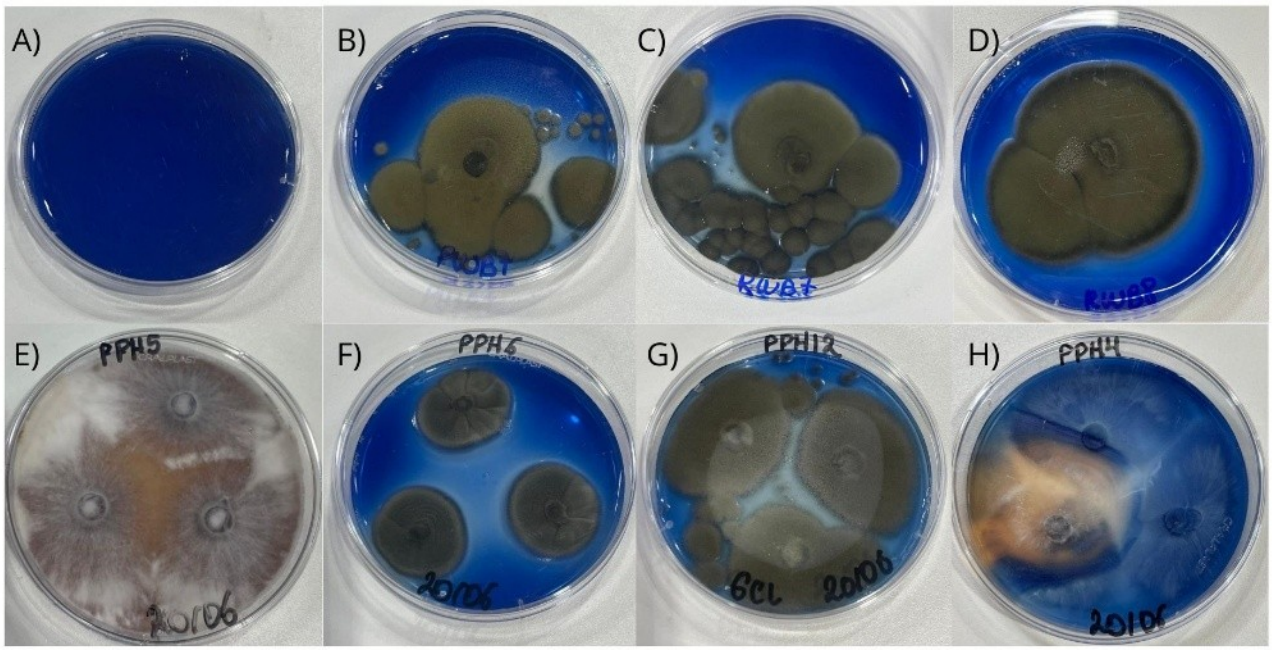
4.2 Selección de actividad enzimática

4.2.1 Screening de enzimas ligninoliticas por decoloración de RBBR en medio solido

La decoloración del Azul Brillante de Remazol (RBBR) es un ensayo ampliamente utilizado para identificar hongos con actividad ligninolítica, ya que este colorante polimérico simula estructuras complejas presentes en la lignina (DA SILVA *et al.*, 2008).

En este estudio, de los 53 aislados evaluados, 28.3% demostraron capacidad para decolorar el RBBR en medio sólido. Entre ellos, seis aislados (PWB7, RWB7, RWB8, PPH5, PPH6 y PPH12) presentaron una decoloración fuerte (+++). Un aislado (PPH15) mostró una decoloración moderada (++), mientras que ocho aislados (PWB8, PPH4, PPH7, PPH8, PPH13, RPH4, RPH8 y RPH9) presentaron una decoloración discreta (+). Los resultados visuales de la decoloración del RBBR se muestran en la figura 7.

Figura 7. Halos de decoloración producidos por los hongos en agar RBBR (0.5 g L^{-1})



Nota: (A) Control RBBR, B) PWB7, C) RWB7, D) RWB8, E) PPH5, F) PPH6, G) PPH12 y H) PPH4. Estos aislado fúngicos se destacaron por presentar una decoloración fuerte (+++).

Fuente: autoría propia.

Los colorantes sintéticos presentan estructuras moleculares aromáticas complejas, lo que los convierte en compuestos extremadamente estables y resistentes a la degradación. No obstante, algunos hongos filamentosos pueden decolorar estos compuestos recalcitrantes mediante un sistema enzimático ligninolítico, que incluye oxidasas como la lignina peroxidasa (LiP), la manganeso peroxidasa (MnP) y las lacasas (PRAKASH *et al.*, 2019). Estas enzimas, debido a su naturaleza inespecífica, pueden actuar sobre una variedad de sustratos.

Cuando un hongo produce estas enzimas, rompe los enlaces aromáticos del RBBR, provocando su decoloración, observable como halos o zonas despigmentadas alrededor del crecimiento fúngico.

4.2.2 Ensayo de decoloración de RBBR en medio liquido

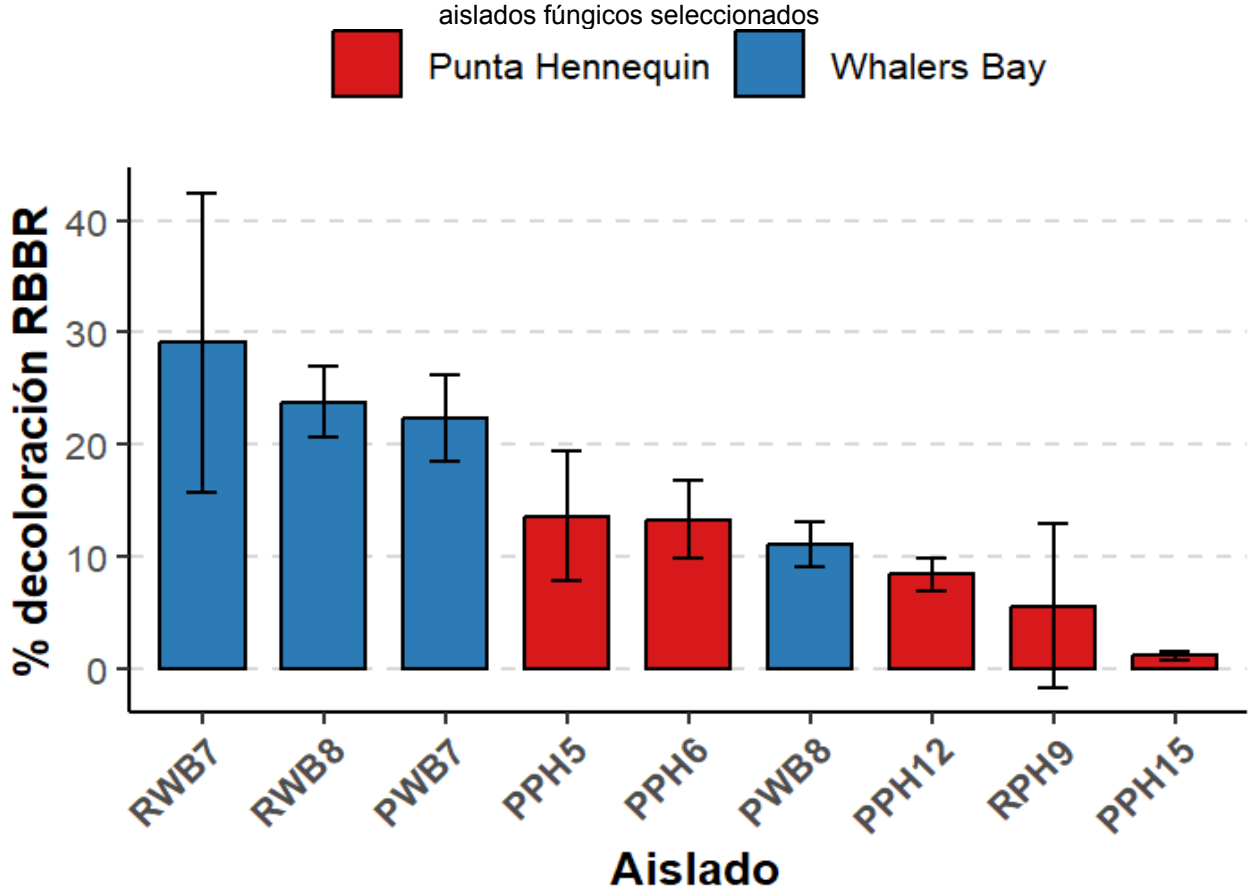
Tras el ensayo inicial en medio sólido, en el que 28.3% de los aislados demostraron capacidad de decoloración del Azul Brillante de Remazol (RBBR), se seleccionaron 9 de ellos para ser evaluados en medio líquido.

Esta selección incluyó los seis aislados con decoloración intensa (+++) (PWB7, RWB7, RWB8, PPH5, PPH6 y PPH12), un aislado con decoloración moderada (PPH15, ++), y dos aislados con decoloración discreta (PWB8 y RPH9, +), con el fin de evaluar si su rendimiento mejoraba bajo condiciones líquidas.

Los resultados del ensayo se pueden visualizar a continuación en la figura 8. Los nueve aislados seleccionados presentaron porcentajes de decoloración que variaron entre 1,13% y 29,11%. Los aislados RWB7 (29,11%) y RWB8 (23,80%) se destacaron por alcanzar los mayores porcentajes de decoloración, mientras que el aislado PPH15 mostró el menor desempeño.

Los aislados seleccionados con baja decoloración (+) en medio sólido, PWB8 y RPH9, lograron porcentajes de 11,09% y 5,57%, respectivamente. Estos resultados evidencian variabilidad en la capacidad de los aislados para decolorar el colorante en condiciones líquidas.

Figura 8. Porcentaje de decoloración del colorante RBBR en medio líquido (PDB + RBBR-0.5g L^{-1}) por los aislados fúngicos seleccionados



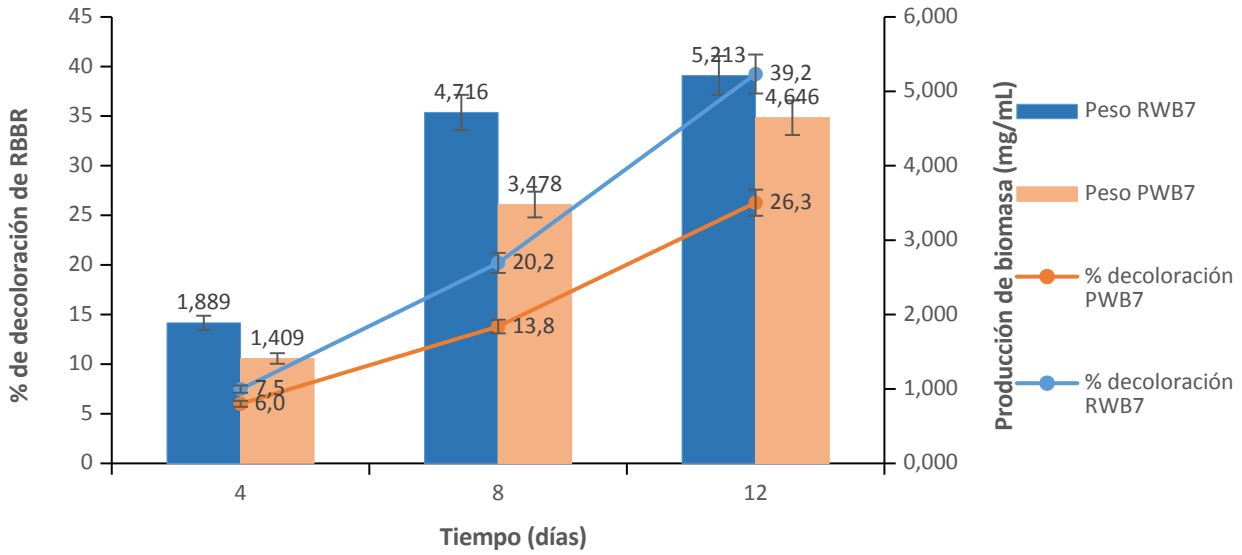
Fuente: autoría propia.

4.2.3 Ensayo de decoloración de RBBR y producción de biomasa

Con base en los resultados obtenidos en los ensayos previos en medio sólido y líquido, se seleccionaron los aislados PWB7 y RWB7, que destacaron por su alta capacidad de decoloración, para una nueva evaluación orientada a cuantificar simultáneamente la decoloración de RBBR y la producción de biomasa seca. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 9.

Durante el ensayo de 12 días, se observó un incremento progresivo tanto en la biomasa fúngica como en el porcentaje de decoloración del colorante RBBR. La cepa RWB7 mostró una mayor capacidad de decoloración, alcanzando un 39,2 % al día 12, mientras que PWB7 logró un 26,3 % en el mismo periodo. Este comportamiento se asoció a un mayor crecimiento fúngico en RWB7 (5,21 mg mL^{-1}) en comparación con PWB7 (4,65 mg mL^{-1}), lo que sugiere que la mayor producción de biomasa contribuyó a su mayor eficiencia en la decoloración del colorante.

Figura 9. Ensayo de decoloración del colorante RBBR en medio de cultivo líquido (PDB + RBBR) y producción de biomasa fúngica a lo largo 12 días a 15°C



Nota: las líneas representan la disminución de la absorbancia del RBBR, mientras que las barras indican el aumento de la biomasa seca durante el ensayo.

Fuente: autoría propia.

El análisis de correlación lineal entre biomasa y decoloración confirmó esta relación positiva. Para RWB7 se obtuvo la ecuación de regresión y = 0.1536X + 0.8201, con un coeficiente de determinación R^2 = 0.9917, indicando una fuerte asociación entre ambas variables. En el caso de PWB7, la regresión fue y = 0.0985X + 1.7413, con un R^2 = 0.7713, lo que también evidenció una correlación positiva, aunque de menor intensidad.

Los resultados obtenidos en este trabajo evidencian una correlación positiva entre el crecimiento fúngico (biomasa) y la capacidad de decolorar el RBBR. Este hallazgo sugiere que, a medida que los hongos incrementan su biomasa, podrían estar produciendo en mayor cantidad las enzimas ligninolíticas responsables de la degradación del colorante, como lacasas y peroxidasas.

En este estudio, los porcentajes de decoloración registrados fueron inferiores al 40 %. Sin embargo, investigaciones previas con hongos filamentosos antárticos han reportado aislados con una mayor capacidad de decoloración de RBBR. Por ejemplo, CARLOS *et al.* (2023) informaron que los aislados FAD28 (Isla Decepción) y FAR18 (Isla Rey George) lograron decoloraciones del 83,3 % y 68,9 %, respectivamente.

Por su parte, YOSHINAGA *et al.* (2024) evaluaron la decoloración y detoxificación del colorante textil índigo carmín por hongos antárticos, identificando tres aislados del género *Penicillium* con alta capacidad de decoloración, que alcanzaron valores entre el 60 % y el 82 %. En el mismo estudio se identificaron también tres hongos con capacidad moderada de decoloración (30 % a 42 %), pertenecientes a los géneros *Leuconeurospora* y *Aspergillus*.

Los porcentajes de decoloración obtenidos en nuestro trabajo, entre el 26 % y el 39 %, resultan comparables a los reportados por YOSHINAGA *et al.* (2024) para aislados con capacidad moderada, lo que sugiere una eficiencia similar bajo las condiciones experimentales empleadas. Estos resultados refuerzan el potencial biotecnológico de los hongos antárticos como agentes en procesos de biorremediación de colorantes sintéticos.

Aunque la tendencia de incremento en la decoloración sugiere que los valores podrían continuar aumentando con un tiempo de incubación mayor, es poco probable que se alcance una decoloración del 100 %. En estudios previos (CARLOS *et al.*, 2023; YOSHINAGA *et al.*, 2024), los porcentajes más elevados se registraron tras 7 días de cultivo, indicando que la actividad enzimática tiende a estabilizarse posteriormente, posiblemente por la depleción de nutrientes, la inactivación de enzimas o la reabsorción del colorante degradado. Por tanto, extender el tiempo de incubación podría aumentar ligeramente la decoloración, pero no necesariamente conducir a una eliminación total del colorante.

Estudios han demostrado que los hongos poseen una notable capacidad para remover contaminantes a través de procesos de biosorción micelial. Esta propiedad se debe a la presencia de diversos grupos funcionales en sus paredes celulares, lo que convierte a la biomasa fúngica, ya sea viva o inactiva, en un bioadsorbente eficaz frente a compuestos recalcitrantes como metales pesados, pesticidas, colorantes, fenoles y otros contaminantes emergentes (BIBBINS-MARTÍNEZ *et al.*, 2023). Si bien en este estudio se asumió que la disminución de la absorbancia del colorante RBBR se debe principalmente a procesos de degradación enzimática, no se descarta que también haya influido la adsorción física del colorante al micelio, fenómeno que podría haber contribuido parcialmente a la reducción observada.

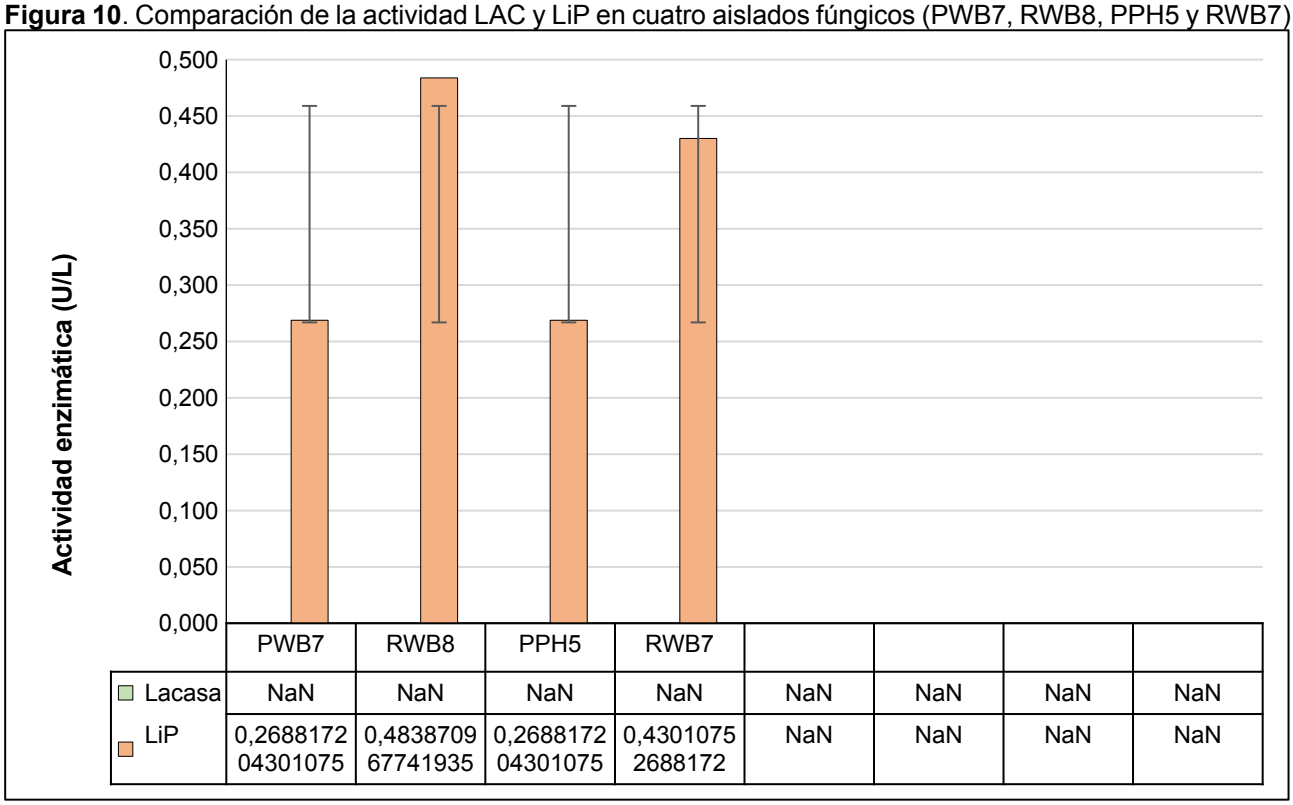
4.2.3.1 Cuantificacion de actividad de enzimas ligninolíticas

Se evaluó la actividad de las enzimas ligninolíticas lacasa y lignina peroxidasa (LiP) en diferentes aislados fúngicos (PWB7, RWB8, PPH5 y RWB7), observándose variaciones en la capacidad enzimática entre ellos.

Se realizó un ANOVA de dos vías para evaluar el efecto del Aislado y el Tipo de Enzima (Lacasa y LiP) sobre la actividad enzimática medida. Los resultados indicaron efectos principales significativos tanto para el aislado ($F = 26.5$, $p = 1.91 \times 10^{-6}$) como para el tipo de enzima ($F = 23.61$, $p = 0.00017$). No se detectó un efecto significativo de la

interacción entre ambos factores (F = 2.456, p = 0.1005), lo que sugiere que el efecto del tipo de enzima sobre la actividad es consistente entre los diferentes aislados. A continuación, en la figura 10 se muestran los resultados obtenidos.

Figura 10. Comparación de la actividad LAC y LiP en cuatro aislados fúngicos (PWB7, RWB8, PPH5 y RWB7)



	PWB7	RWB8	PPH5	RWB7				
Lacasa	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN
LiP	0,2688172 04301075	0,4838709 67741935	0,2688172 04301075	0,4301075 2688172	NaN	NaN	NaN	NaN

Fuente: autoría propia.

Los aislados RWB8 y RWB7 destacaron por presentar altos niveles de actividad en ambas enzimas, lo que los posiciona como candidatos con mayor potencial ligninolítico. En cambio, PPH5 presentó la menor actividad en ambas enzimas, indicando una limitada capacidad para la degradación de lignina. Estos hallazgos resaltan la diversidad funcional entre los aislados fúngicos evaluados.

4.2.3.2 Lacasa

La actividad enzimática de lacasa mostró niveles detectables en los aislados evaluados, con producción bajo condiciones de incubación a 15 °C. La cuantificación de la actividad se realizó a 25 °C, lo que sugiere que los hongos antárticos poseen mecanismos eficientes para la síntesis de enzimas oxidativas en ambientes fríos.

Los niveles de actividad lacasa variaron entre los aislados. El mayor valor fue registrado en RWB8 (0,401 U L^{-1}), seguido de RWB7 (0,354 U L^{-1}), mientras que PPH5 no

presentó actividad detectable (0,000). Estos resultados evidencian una capacidad diferenciada entre los aislados para la producción de lacasa.

Comparando estos resultados con la literatura disponible, se observa que COSTA *et al.* (2018), al evaluar 249 aislados de suelo, encontraron que 35 mostraron actividad lacasa probable, pero los valores de actividad fueron inferiores a 0,2 U L^{-1}. Esta baja actividad podría estar relacionada tanto con las condiciones de crecimiento como con la naturaleza de los aislados.

De manera similar, CARLOS *et al.* (2023) reportaron que su aislado FAR18 (*Cladosporium* sp.) alcanzó una actividad de 0,103 U L^{-1}después de 14 días de incubación, tiempo comparable al utilizado en este estudio. La concordancia en los tiempos de incubación fortalece la comparación directa entre los resultados, sugiriendo que, en condiciones similares, los aislados analizados en esta investigación presentaron actividades enzimáticas que se encuentran dentro del rango e incluso por encima de los reportados en dichos estudios.

Por otro lado, al comparar la actividad lacasa observada en este estudio con la reportada en hongos mesófilos, se evidencia que los valores obtenidos se encuentran considerablemente por debajo. Por ejemplo, se ha documentado que el hongo *Mucor racemosus* CBMAI, aislado de ambientes marinos, puede alcanzar una actividad lacasa de hasta 898.15 U L^{-1} (BONUGLI-SANTOS *et al.*, 2010).

Estos resultados reflejan que, aunque la actividad lacasa de los aislados antárticos es considerablemente inferior en comparación con hongos mesófilos, su capacidad para producir esta enzima a bajas temperaturas es biológicamente relevante. Lo que sugiere una adaptación funcional a las condiciones extremas del ecosistema antártico, donde las bajas temperaturas limitan la actividad enzimática convencional (DUARTE *et al.*, 2017).

Estas observaciones respaldan el potencial de los aislados antárticos como fuentes de lacasas activas a bajas temperaturas, destacando su posible aplicación en bioprocesos industriales donde se requiera actividad catalítica en ambientes fríos.

4.2.3.3 Lignina Peroxidasa

En la evaluación de LiP, RWB8 también mostró la mayor actividad (0.483 U L^{-1}), seguida por RWB7 (0.430 U L^{-1}). Los valores más bajos se observaron en PPH5 y PWB7 (0,268 U/L). El análisis *post hoc* evidenció diferencias significativas entre ciertos pares de aislados, como PWB6 frente a PPH4 y PPH11 ($p < 0.05$).

Estos resultados indican que el aislado RWB8 exhibe una mayor eficiencia catalítica bajo las condiciones ensayadas, esta diferencia sugiere su posible uso preferente en aplicaciones biotecnológicas donde se requiera alta actividad oxidativa. Los valores de actividad de LiP obtenidos en este estudio se encuentran dentro del rango reportado previamente para hongos de ambientes antárticos.

BLANCO BARATO (2014) reportó que la mayoría de los aislados terrestres evaluados presentaron actividad de lignina peroxidasa (LiP), destacándose *Cosmospora* sp., el cual fue aislado de huesos de ballena y tuvo una actividad máxima de 2.25 U L^{-1}. Otros aislados, como M22, M13 y M2, todos provenientes de madera, registraron actividades de 0.47 U L^{-1}, 0.48 U L^{-1} y 0.44 U L^{-1}, respectivamente. Al comparar los resultados, se observa que los aislados evaluados en este trabajo presentan un comportamiento similar en cuanto a su capacidad ligninolítica, lo que refuerza la hipótesis de que los hongos adaptados a ambientes fríos pueden participar activamente en la degradación de compuestos lignocelulósicos (CONG *et al.*, 2017).

Es importante señalar que en el estudio de BLANCO BARATO (2014), la incubación se realizó a 15 °C, la misma temperatura empleada en nuestro trabajo; sin embargo, el periodo de cultivo fue de 7 días, mientras que en el presente estudio se extendió a 14 días. Esta diferencia en el tiempo de incubación podría influir en los niveles de actividad enzimática observados, ya que se ha demostrado que el tiempo de incubación es un factor determinante en la expresión y acumulación de enzimas ligninolíticas (SHUKLA; PADHIAR, 2021).

Por otro lado WENTZEL *et al.* (2019), trabajando también con hongos aislados de ambientes antárticos (Isla Rey George, Antártida), reportaron tres aislados con actividades de LiP superiores a 1 U L^{-1}: 9P-1.9 (5.41 U L^{-1}), 12P-3.10B (1.7 U L^{-1}) y 9P-3.19 (1.0 U L^{-1}). Estos valores son mayores que los obtenidos en este estudio, lo que sugiere que, aunque los hongos antárticos presentan en general una capacidad ligninolítica, existen variaciones importantes entre cepas y condiciones experimentales que pueden influir en la expresión y actividad de la enzima.

4.2.4 Screening de actividades enzimáticas hidrolíticas en medio solido

A partir de los aislados recuperados de las muestras, se realizaron ensayos para la selección de las actividades enzimáticas ligninolíticas, así como de lipasa, proteasa y amilasa. De los 53 hongos testados, todos mostraron alguna actividad (ya sea fuerte,

moderada o discreta) para las enzimas testadas. Los hongos aislados pudieron hidrolizar sustratos como guayacol (n=1), colorante (n=15) y lípidos (n=12). En cuanto a actividad proteasa (n=43) y amilasa (n=36), se reveló que una gran parte de los aislados presentaron actividad para estas enzimas. En la tabla 6 se puede evidenciar un resumen general de los resultados del *screening* enzimático.

Tabla 6. Potencial biotecnológico de hongos aislados del suelo de la Isla Decepción y la Isla Rey George, Antártida marítima

	Actividad													
	RBBR			Guaiacol		Lacasa	LiP	Lipasa			Proteasa		Amilasa	
Cepas	Halo	Diametro (mm)	% de decoloración	Halo	Diametro halo (mm)	Actividad (U mL^{-1})	Actividad (U mL^{-1})	Halo	Diametro (mm)	Actividad (U L^{-1})	Halo	Diametro (mm)	Halo	Actividad (U dL^{-1})
PWB1											+	32.7	++	
PWB2											+	36.3	+++	
PWB3											+	32.3	+	
PWB4											+	30.0	+	
PWB5											+	35.0	+	
PWB6								+++	76	11.76			+++	
PWB7	+++	28	22.31			138.89	268.82				+		+	
PWB8	+	15.5	11.09										++	
PWB9													+++	
PWB10											+	23.7	+	
PWB11											+	24.3	+	
PWB12											+	28.5	++	
PWB13											+	24.5	+++	29.41
PWB14											+	25.0		
PWB15											+	31.7		
PWB16											+	34.7	++	
PWB18											-			
RWB1											+	29.0	++	
RWB2											+	35.3	+++	
RWB3											+	32.3	+++	
RWB4								++	41		+	33.7	+	
RWB5								+++	73	3.83			+++	
RWB6											+	39.0	+++	120.58
RWB7	+++	31	29.11			354.94	430.11				+		+++	
RWB8	+++	31.3	23.8			401.23	483.87				+	37.3	+++	
RWB9											+	26.0	++	
RWB10.11											+	30.3	+	
RWB12											+	30.3	+	
RWB13											+	33.3	+++	152.94
RWB14											+	34.7	++	
RWB15											+	29.3	+	
PPH1											+	22.0	+	
PPH2											+	29.3		
PPH3								++	24.5		+	25.0		
PPH4	+							+++	71	2.21				
PPH5	+++	52	13.56	+++	16	0	268.82	++	70		+	33.0	+++	405.88
PPH6	+++	40	13.31								+	31.7		
PPH7	+										+	27.7		

PPH8	+							+	25.7	+
PPH9					++	19		+	13.7	+
PPH10								+	26.7	+
PPH11					+++	72.5	5.22			
PPH12	+++	49.5	8.39					+	31.7	+
PPH13	+							+	31.0	
PPH14								+	33.0	
PPH15	++	52	1.13		++	33				
RPH1								+	18.0	
RPH2.3								+	24.0	+
RPH4	+							+	36.3	
RPH5					++	21		+	34.0	
RPH6.7					+	48.5		+	25.3	
RPH8	+				+	61.5				
RPH9	+	23	5.57							

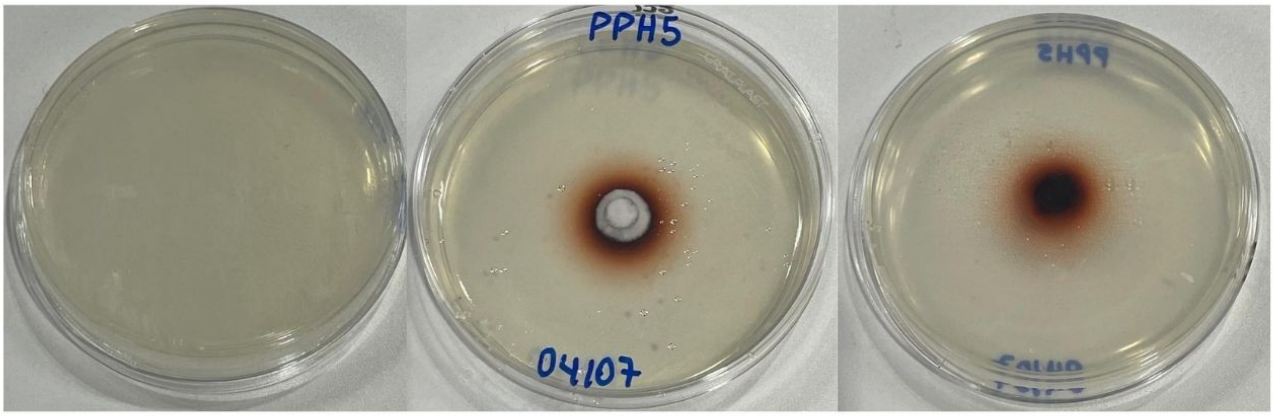
Nota: + = actividad discreta en medio de cultivo sólido, ++ = actividad moderada en medio de cultivo sólido, +++ = buena actividad en medio de cultivo sólido. (coloca a tabela em uma folha separada no formato horizontal).

Fuente: autoría propia.

4.2.4.1 Guayacol

Se encontró solo una cepa capaz de oxidar este sustrato y que produjo un halo un color marrón-rojizo (guaiacoquinona). En la figura 11 (A, B, C) se presenta el *screening* de lacasas con guayacol.

Figura 11. *Screening* cualitativo de actividad lacasa en medio sólido



Nota: de izquierda a derecha, control sin guayacol; (A) aislado PPH5, vista frontal, donde se observa halo marrón-rojizo indicativo de actividad lacasa; (B) aislado PPH5, vista posterior.
Fuente: autoría propia.

La cepa PPH5 logró tanto decolorar el RBBR como producir un halo marrón-rojizo en el ensayo de guayacol. Esto sugiere que este hongo posee un conjunto enzimático robusto y diversificado, capaz de decolorar RBBR y oxidar guayacol.

DUARTE *et al.* (2018) evaluaron la producción de enzimas ligninolíticas en 129 hongos filamentosos aislados de Isla Rey George, y fueron identificadas 29 cepas (22,4%) con actividad positiva en el ensayo con guayacol. En este estudio, la mayoría de los hongos con actividad ligninolítica pertenecían al género *Cadophora*. Además, se detectaron representantes de otros géneros, entre ellos *Penicillium, Oidiodendron, Cosmospora, Geomyces* y *Cladosporium.*

El *screening* con guayacol ha sido ampliamente utilizado para identificar hongos con actividad ligninolítica incluyendo lacasa, manganeso peroxidasa (MnP) y lignina peroxidasa (LiP). En el estudio de COSTA *et al.* (2018), este método permitió seleccionar 35 aislados de suelo con probable actividad de lacasa, aunque los valores cuantitativos de esta fueron bajos (<0.2 U L^{-1}).

En dicho estudio, se destacaron tres aislados que presentaron actividad significativa de lignina peroxidasa, siendo: 9P-1.9 (5.41 U L^{-1}), 12P3.10B (1.7 U L^{-1}) y 9P-3.19 (1 U L^{-1}), mientras que no se detectó actividad de manganeso peroxidasa (MnP). Estos resultados

refuerzan la utilidad del ensayo con guayacol como un método inicial eficaz para la detección de hongos con potencial ligninolítico.

4.2.4.2 Lipasa

Esta actividad se consideró positiva con la presencia de un halo fluorescente color naranja alrededor de la colonia al exponerse a luz UV (265 nm) (Figura 12), tras crecer durante 21 días. Se encontraron 4 aislados (PWB6, RWB5, PPH4, PPH11) que produjeron halos con una fuerte fluorescencia (+++), 6 aislados (RWB4, PPH3, PPH5, PPH9, PPH15, RPH5) con actividad moderada (++) y 2 (RPH6.7, RPH8) mostraron fluorescencia débil (+).

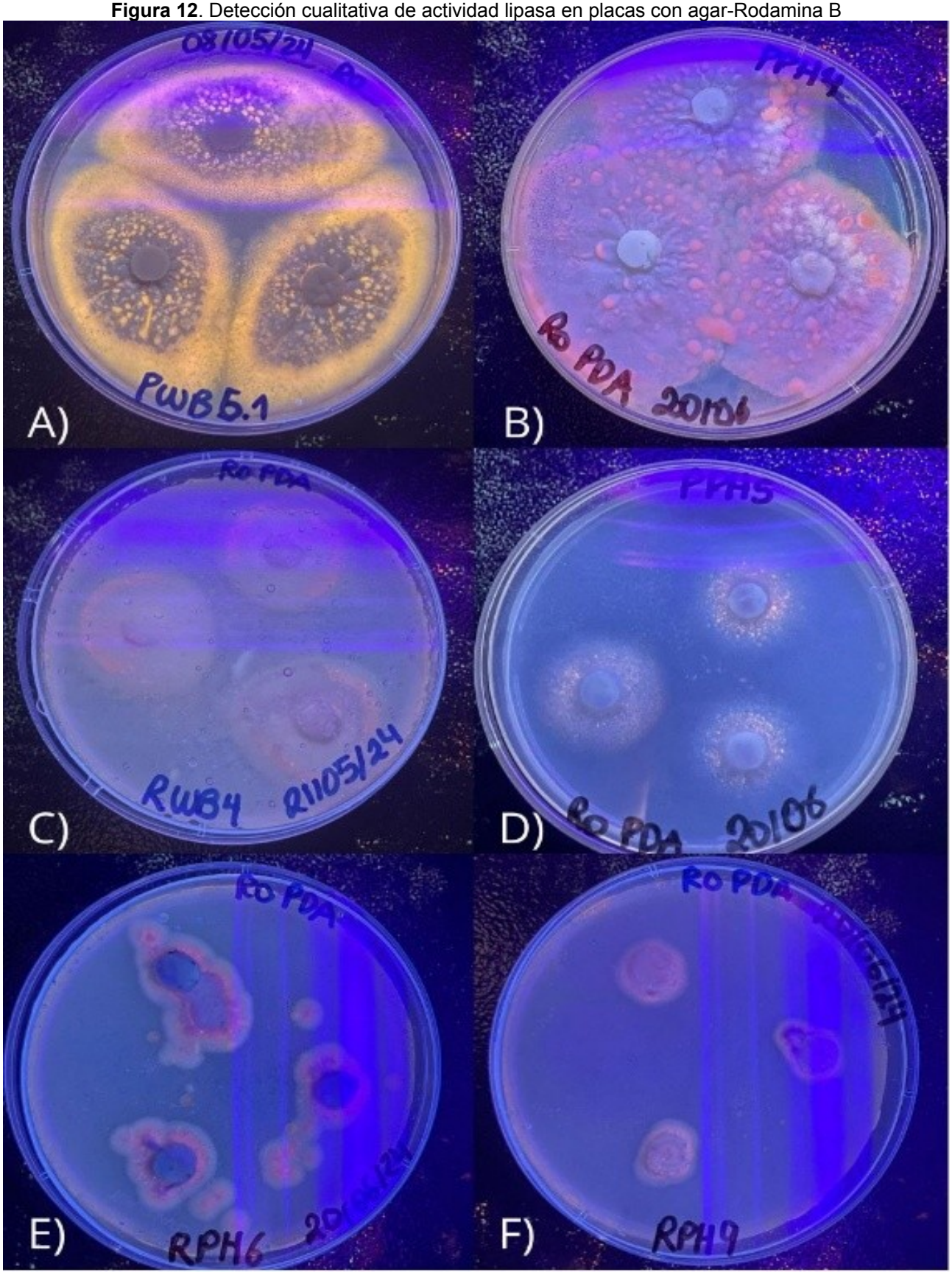
La actividad lipasa fue evidente en varios de los aislados, lo cual coincide con el estudio de FENICE *et al.* (1997), quienes realizaron un *screening* enzimático para evaluar la capacidad de producción de enzimas extracelulares en hongos antárticos aislados de distintos sitios de Victoria Land, en la Antártida continental. En su investigación, observaron que las lipasas estuvieron presentes de manera generalizada y en altas cantidades en casi todas las cepas analizadas, lo que resalta la importancia de esta actividad en hongos adaptados a condiciones extremas.

La producción de esta enzima por hongos antárticos podría estar asociada a mecanismos de tolerancia al frío. El mantenimiento de la fluidez de la membrana es esencial para la supervivencia y esto se consigue incrementando el grado de instauración de ácidos grasos (DUARTE *et al.*, 2017).

En su hábitat natural, los hongos antárticos frecuentemente encuentran lípidos provenientes de restos vegetales, grasas animales y otras fuentes biológicas. La producción de lipasas les permite descomponer estos lípidos para obtener energía y carbono, esenciales para su crecimiento y reproducción en un entorno donde los recursos son escasos (VARRELLA *et al.*, 2021).

Lipasas de hongos psicrófilos/psicrotolerantes han llamado la atención debido a su potencial para aplicaciones biotecnológicas. Estas enzimas pueden usarse para formular productos de limpieza, convertir aceites vegetales en biodiesel, descomponer leche a bajas temperaturas, tratar aguas residuales en regiones templadas e incluso para limpiar vertidos de petróleo (TSUJI *et al.*, 2015; MARTORELL *et al.*, 2019).

Figura 12. Detección cualitativa de actividad lipasa en placas con agar-Rodamina B



Nota: (A) PWB6 y (B) PPH5 presentaron actividad intensa; (C) RWB4 y (D) PPH15 mostraron actividad moderada; (E) RPH6 y (F) RPH9 evidenciaron actividad débil.

Fuente: autoría propia.

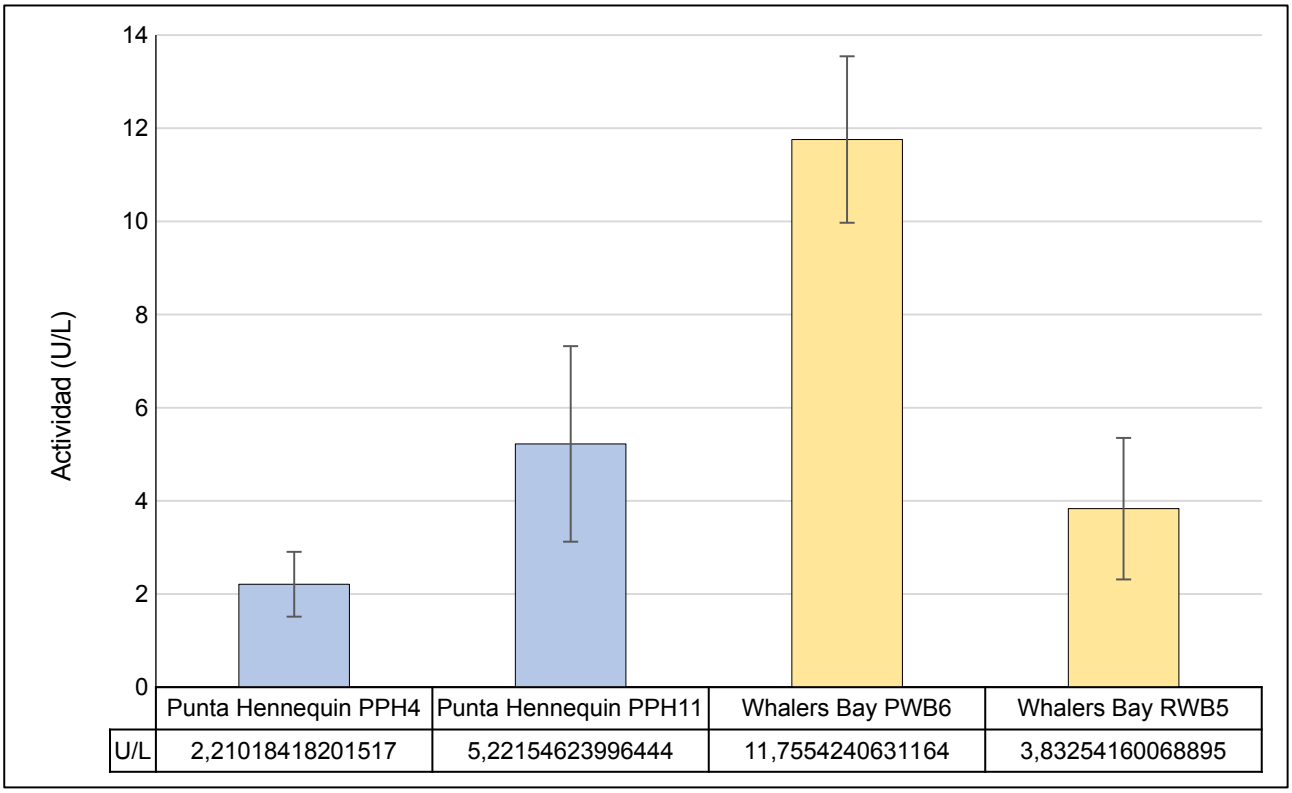
4.2.4.3 *Cuantificación de la Actividad enzimática Lipasa*

La actividad lipasa de los aislados varió entre 2.21 y 11.76 U L^{-1}, siendo el aislado PWB6 el que presentó la mayor actividad y PPH4 la menor. A continuación, se presentan los resultados detallados en la figura 13.

Se comparó la actividad lipasa entre cuatro aislados mediante ANOVA, sin encontrar diferencias significativas con el método clásico ($p = 0.055$). No obstante, la prueba de permutación ANOVA fue altamente significativa ($p = 0.00086$), lo cual sugiere que existen diferencias reales entre los grupos, incluso ante varianzas heterogéneas.

La comparación *post hoc* mediante el test de Dunn con corrección de Bonferroni reveló una diferencia estadísticamente significativa entre los aislados PWB6 y PPH4 ($p = 0.02787$), mientras que el resto de las comparaciones no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$). Este resultado indica que PWB6 exhibe una mayor actividad lipasa que PPH4, siendo la única comparación con diferencia robusta entre aislados.

Figura 13. Actividad lipasa cuantificada en medio líquido utilizando 4-nitrophenil palmitato como sustrato



Nota: los valores expresan la actividad enzimática (U/L) de los aislados evaluados.
Fuente: autoría propia.

Los aislados evaluados, presentaron actividad lipasa. Aunque estos reflejan una capacidad enzimática detectable, se encuentran por debajo de los niveles reportados en otros estudios.

Como es el caso de WENTZEL *et al.* (2019), quienes evaluaron la actividad lipasa en 16 levaduras y 9 hongos. Reportaron que solo nueve aislados superaron los 500 U L^{-1}, siendo el más destacado *Metschnikowia* sp. CRM1589, que alcanzó 880 U L^{-1}, y que luego de un diseño experimental optimizado, incrementó su producción hasta 1050 U L^{-1}.

DUARTE *et al.* (2013) informaron actividad lipasa en cepas de hongos antárticos. Se reportaron actividades superiores a 0,1 U L^{-1} (equivalentes a 100 U L^{-1}) en 38 cepas, incluyendo *Cryptococcus laurentii* (L35, L59, L63, L70), *Leucosporidium scottii* (L116, L117) y *Cryptococcus adeliensis* (L121). Nuestros resultados siguen siendo relevantes considerando que fueron obtenidos en condiciones iniciales sin optimización del cultivo ni del medio de producción.

En dicho estudio, las cepas más destacadas fueron L117 (230 U L^{-1}), L59 (143 U L^{-1}) a las 120 h y L121 (113 U/mL) a las 144 h de incubación de la enzima, tiempos considerablemente mayores que los aplicados en el presente trabajo (5 min de reacción enzimática tras cultivo).

Comparativamente, los aislados del presente estudio exhiben niveles de producción inferiores, aunque cabe destacar que no se aplicaron condiciones de optimización ni procesos de purificación. Esto sugiere que los hongos evaluados tienen un potencial que podría incrementarse mediante modificaciones en el medio de cultivo, tiempo de incubación o ajustes de pH y temperatura, tal como se ha demostrado en estudios previos.

Además, la procedencia antártica de los aislados aquí estudiados podría asociarse a la producción de enzimas activas a bajas temperaturas, una característica valiosa para aplicaciones industriales donde se requiere eficiencia enzimática en condiciones frías.

4.2.4.4 Proteasa

En el ensayo de hidrólisis de la caseína de la leche, se pudo observar que la mayoría de los aislados (43) mostraron actividad proteasa. Se evidenció la formación de halos transparentes alrededor de las colonias a los 7 días. En la figura 14 se muestran los resultados de la prueba. Los aislados positivos para proteasa formaron halos en un rango de 18 a 35 mm. En la tabla 6 se muestran los aislados y su actividad proteolítica.

Figura 14. Detección cualitativa de actividad proteasa en medio con agar-leche descremada

Nota: los aislados RWB8, RWB3 y RWB1 mostraron halos de aclaramiento indicativos de actividad proteolítica.

Fuente: autoría propia.

Se han reportado hongos antárticos capaces de producir proteasas que pertenecen a géneros como: *Acremonium, Candida, Cryptococcus, Chrysosporium, Embellisia, Exophiala, Geomyces, Glaciozyma, Glomerella, Leuconeurospora, Leucosporidium, Mrakia, Phoma, Pseudogymnoascus, Rhodotorula, Trichoderma, Vanrija,* y *Wickerhamomyces* (DUARTE *et al.*, 2017).

Las proteasas adaptadas al frío presentan un gran potencial para su uso en la industria. Pueden ser aplicadas en bioprocesos alimentarios si se pueden producir económicamente a gran escala. Estas enzimas pueden acelerar procesos como la maduración del queso y suavizar productos cárnicos congelados (KUMARI *et al.*, 2021).

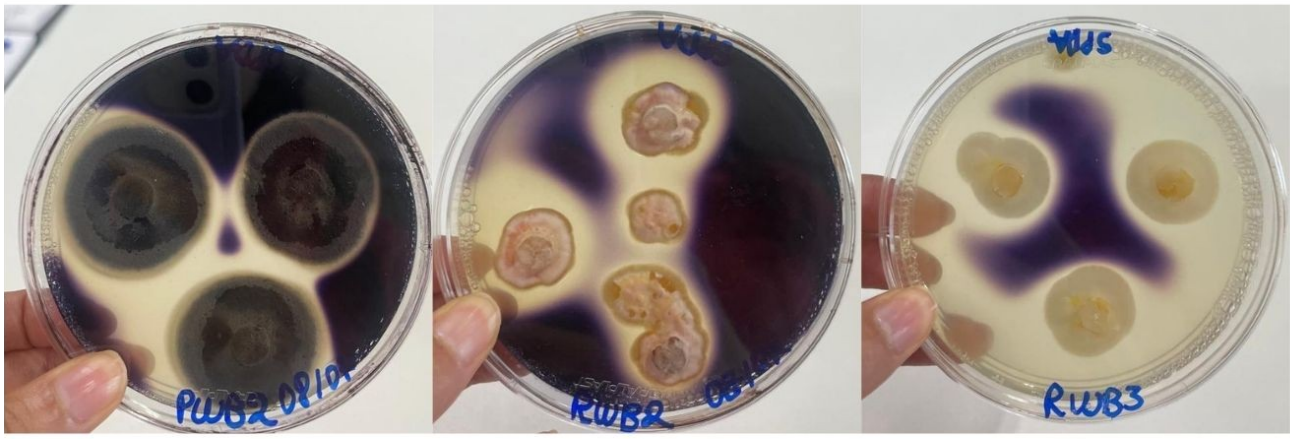
También pueden usarse para recuperar nutrientes sensibles al calor, como lípidos ricos en ácidos grasos poliinsaturados. Son también eficaces en la degradación de proteínas que producen turbidez en la elaboración de vino y cerveza. Adicional a esto, presentan utilidad en la industria textil, ya que pueden ser utilizadas en detergentes y jabones en polvo para eliminar la suciedad en procesos de “lavado en frío” y lavado de textiles a temperatura ambiente (DUARTE *et al.*, 2017; KUMARI *et al.*, 2021).

4.2.4.5 Amilasa

La actividad de la amilasa se analizó cultivando las cepas en medios suplementados con almidón como fuente de carbono. Se encontraron 35 cepas con esta actividad, 11 de ellas presentaron un halo fuerte (+++), 7 un halo moderado (++) y 18 (+) indicaron un halo discreto. En la tabla 6 se muestran todos los aislados que presentaron actividad amilasa.

Los aislados de Whales Bay mostraron halos de actividad enzimática más fuertes (+++). En el caso de Punta Hannequin, la mayoría exhibió actividad discreta (+). A continuación, en la figura 15 se evidencian algunos de los aislados con actividad positiva.

Figura 15. Detección cualitativa de actividad amilasa en medio con agar-almidón



Nota: los aislados PWB2, RWB2 y RWB3 presentaron halos claros bien definidos (+++), indicativos de intensa actividad enzimática.

Fuente: autoría propia.

La amilasa es una de las enzimas hidrolíticas más comúnmente reportadas en microorganismos de ambientes fríos. De manera concordante, un estudio reciente de TEIXEIRA *et al.* (2025) informó que 35 de 47 aislados fúngicos terrestres provenientes de suelos de la isla Decepción presentaron actividad amilasa, destacando su frecuencia y relevancia funcional en estos ecosistemas.

Estas enzimas podrían participar en la descomposición de macromoléculas poco comunes en estos ambientes extremos, como polisacáridos presentes en la biomasa vegetal residual, exudados y materia orgánica dispersa en los suelos (DA SILVA *et al.*, 2022). Estas fuentes de carbono, aunque limitadas, son fundamentales para la supervivencia microbiana.

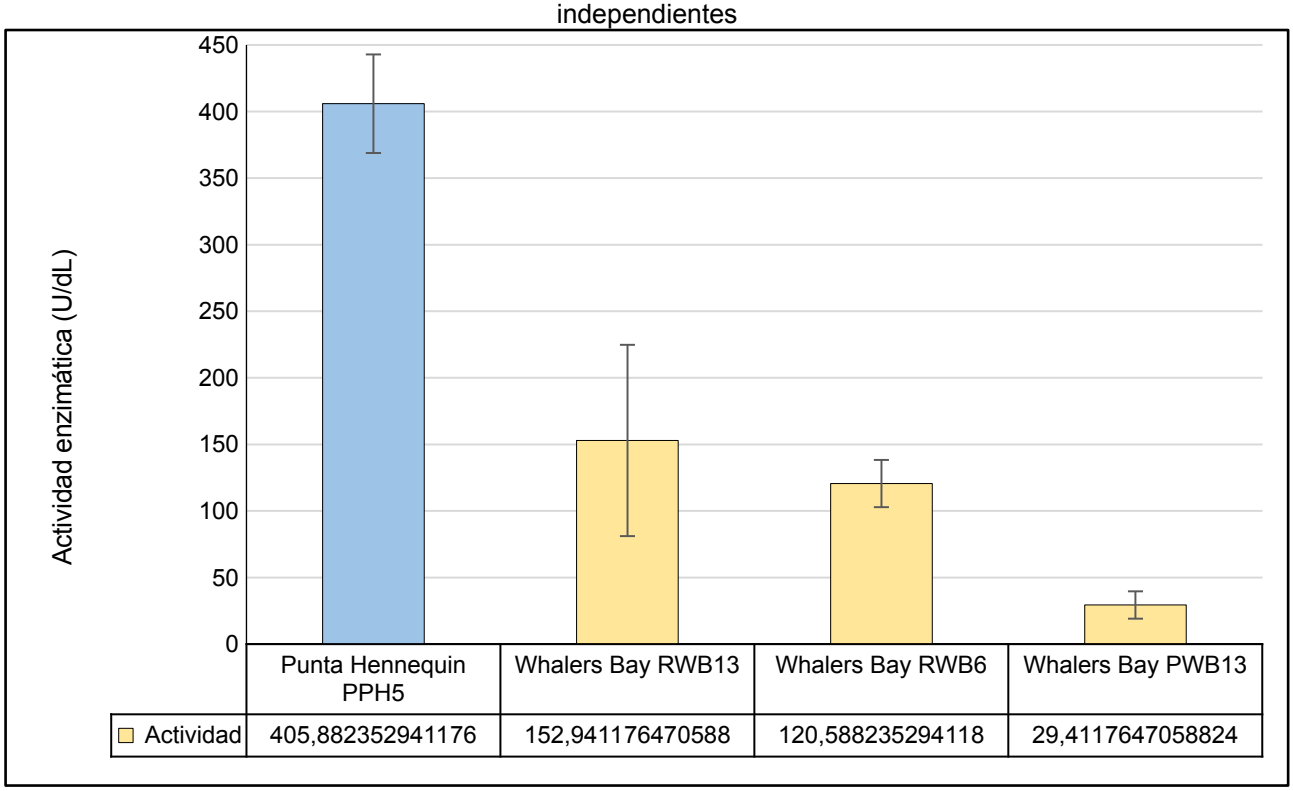
Las amilasas tienen un enorme potencial para su uso en aplicaciones alimentarias, como la fermentación de vino, cerveza, pan y zumos de frutas. También presenta potencial en la industria de papel, textiles y detergentes (DUARTE *et al.*, 2017; KUMARI *et al.*, 2021).

Las amilasas activas en frío más estudiadas son las α-amilasas, pero solo unas pocas han sido propuestas para su posible aplicación en la industria alimentaria, como es el ejemplo de una nueva α-amilasa aislada de un hongo psicrófilo, *Geomyces panorum*, que se dice que tiene aplicaciones tangibles para la industria panadera (KUMARI *et al.*, 2021).

4.2.4.6 *Cuantificación de la Actividad enzimática Amilasa*

Se procedió a seleccionar 4 aislados que tuvieron mejor desempeño (+++) en el test cualitatito para después cuantificar su actividad. El aislado PPH5 tuvo la mayor actividad enzimática 405.88 U dL^{-1}, seguido de RWB13 152.94 U dL^{-1}, RWB6 120.59 U dL^{-1} y PWB13 29.41 U dL^{-1} (ver figura 16).

Figura 16. Actividad enzimática de amilasa, los valores representan la media de tres repeticiones independientes



Fuente: autoría propia.

Se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para evaluar si existían diferencias significativas en la actividad enzimática de amilasa entre los distintos aislados (RWB6, PPH5, PWB13 y RWB13). Los resultados del ANOVA indicaron diferencias significativas entre los grupos ($F = 44.95$, $p = 2.366 \times 10^{-5}$), con un valor de omega² de 0.9166, lo que indica que aproximadamente el 91,7% de la varianza total puede atribuirse a diferencias entre grupos.

La prueba *post hoc* de comparaciones múltiples de Tukey reveló que el grupo PPH5 presentó diferencias estadísticamente significativas respecto a todos los demás grupos (RWB6, PWB13 y RWB13), con valores de $p < 0.001$ en todos los casos.

Asimismo, se detectaron diferencias significativas entre PWB13 y RWB13 ($p = 0.02659$). No se observaron diferencias significativas entre RWB6 y PWB13 ($p = 0.07045$), ni entre RWB6 y RWB13 ($p = 0.8957$), lo que sugiere una respuesta enzimática similar entre estos dos últimos grupos.

El aislado PPH5 (*Oudemansiella canarii*) presentó la mayor actividad enzimática entre los evaluados, alcanzando 405,88 U dL^{-1}, lo que resalta su alto potencial amilolítico. Este desempeño sugiere una notable capacidad del aislado para degradar almidón, posiblemente atribuida a una eficiente secreción de enzimas adaptadas a bajas temperaturas.

Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que han reportado una elevada actividad amilasa en hongos filamentosos psicrófilos o psicrótrofos provenientes de ambientes extremos como la Antártida bajo condiciones experimentales similares de temperatura (15 °C).En particular, KRISHNAN *et al.* (2022) documentaron la actividad amilasa del extracto crudo de *Pseudogymnoascus* sp. 4064 U dL^{-1}, mientras que la enzima parcialmente purificada mostró una actividad considerablemente menor (371 U dL^{-1}).

Esta disminución puede atribuirse a la pérdida de cofactores, la eliminación de isoenzimas que actúan sinérgicamente, o a alteraciones estructurales inducidas durante el proceso de purificación. Estos datos evidencian la complejidad de los sistemas enzimáticos en extractos crudos y la importancia de considerar estos efectos al comparar actividades entre diferentes grados de purificación.

Las amilasas representan enzimas de alto valor industrial debido a su capacidad para catalizar la degradación del almidón, siendo ampliamente utilizadas en sectores como la panadería, la industria papelera, textil, cervecera y de detergentes (DUARTE *et al.*, 2017).

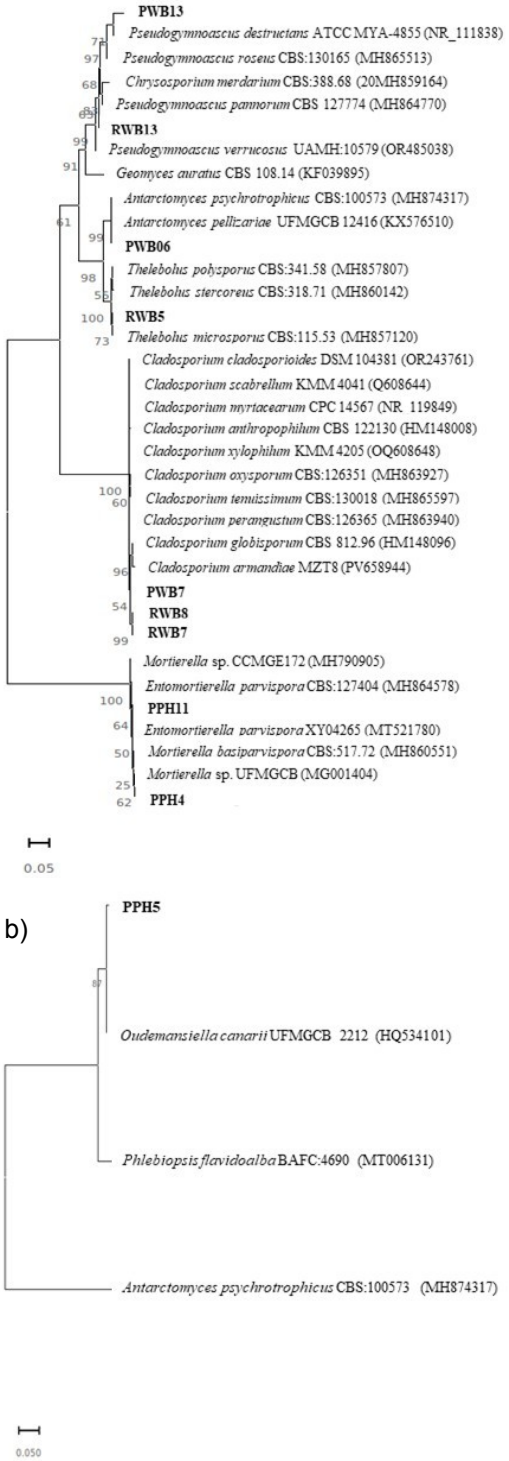
Los resultados obtenidos en este estudio refuerzan el potencial biotecnológico de los hongos antárticos como fuente de amilasas activas a bajas temperaturas. Estas enzimas, no solo reflejan una estrategia ecológica clave para la supervivencia microbiana en ambientes extremos, sino que también ofrecen ventajas operativas en procesos industriales que requieren eficiencia catalítica en condiciones de refrigeración o bajo consumo energético.

4.2.5 Identificación taxonómica de hongos productores de enzimas

Se realizó la identificación molecular de 10 (diez) de aislados fúngicos que presentaron actividades enzimáticas relevantes. Las herramientas moleculares permitieron

la identificación de los aislados a nivel de género y en algunos casos hasta especie. A continuación, en la figura 17 se puede observar el árbol filogenético basado en las secuencias ITS de los aislados.

Figura 17. Árbol filogenético fue basado en secuencias de la región ITS, construido mediante el método NJ (bootstrap con 1000 réplicas)



Nota: se muestran las agrupaciones correspondientes a los filos (a) Ascomycota y (b) Basidiomycota.
Fuente: autoría propia.

La mayoría de las secuencias presentaron altos porcentajes de similitud (>99 %) con especies previamente registradas, lo que permitió su identificación a nivel de género. Los hongos identificados pertenecen a los géneros *Antarctomyces*, *Cladosporium*, *Pseudogymnoascus* y *Mortierella*. Dos aislados pudieron ser determinados a nivel de especie**,** correspondiendo a *Thelebolus microsporus* y *Oudemansiella canarii*. Todas las diez secuencias obtenidas fueron depositadas en la base de datos GenBank, bajo los códigos PX283700 al PX283709. A continuación, en la tabla 7**,** se presentan los hongos identificados en este estudio.

Tabla 7. Identificación molecular basada en la región (ITS), amplificada con los cebadores ITS5 e ITS4, código y asignación filogenética de aislados fúngicos

Aislado	Propuesta taxonómica	pb	Gaps	Similares (pb/pb)	Similitud de secuencia BLASTn (%)
PWB6	*Antarctomyces* sp.	705	104	543/543	100%
RWB8	*Cladosporium* sp.	583	11	547/549	99.63
PPH5	*Oudemansiella canarii*	663	18	641/642	99.84%
RWB7	*Cladosporium* sp.	583	11	553/555	99.63
PWB7	*Cladosporium* sp.	566	20	544/544	100%
RWB13	*Pseudogymnoascus* sp	581	11	567/569	99.64%
RWB5	*Thelebolus microsporus*	1463	3	548/548	100%
PWB13	*Pseudogymnoascus* sp.	1016	38	953/955	99.79%
PPH4	*Mortierella* sp.	626	5	615/615	100%
PPH11	*Mortierella* sp.	653	30	623/623	100%

Fuente: autoría propia.

El aislado PWB6 fue identificado como *Antarctomyces* sp., una especie previamente reportada en suelos antárticos y reconocida por su carácter psicrótrofo, es decir, su capacidad de crecer eficientemente a bajas temperaturas (STCHIGEL *et al.*, 2001). En este estudio, PWB6 mostró una destacada actividad lipasa, siendo el aislado con mayor producción entre todos los evaluados. Sin embargo, no presentó actividad proteasa detectable bajo las condiciones del ensayo. Este resultado contrasta parcialmente con lo reportado por MACHADO *et al.* (2022), quienes observaron actividad tanto lipasa como proteasa en esta especie. Estas diferencias podrían deberse a variaciones propias de la cepa o a las condiciones experimentales utilizadas. Aun así, los hallazgos refuerzan el potencial biotecnológico de *Antarctomyces* sp. como fuente de enzimas activas en ambientes fríos.

Por su parte, los aislados RWB7, RWB8 y PWB7 fueron identificados como pertenecientes al género *Cladosporium* (99,6–100 % de identidad). Este es un grupo fúngico cosmopolita, ampliamente distribuido en diversos ecosistemas y con una notable capacidad de dispersión y colonización. Si bien muchas especies son saprótrofas, también se han descrito formas endófitas, fitopatógenas, micoparásitas e incluso oportunistas en humanos y animales (SIMONETTI *et al.*, 2024). En ambientes antárticos, su presencia ha sido atribuida tanto a una posible contaminación antrópica como a su capacidad de adaptación a condiciones extremas (OGAKI *et al.*, 2020).

Diversos estudios han demostrado el potencial enzimático de especies antárticas de *Cladosporium*. DA SILVA *et al.* (2024), por ejemplo, reportaron que *Cladosporium* sp. UFMGCB 19612 expresó simultáneamente cuatro actividades enzimáticas (celulasa, esterasa, lipasa y proteasa), lo que subraya la versatilidad metabólica del género en ambientes fríos.

El aislado PPH5, fue identificado como *Oudemansiella canarii* (99.84 %), presentó un perfil funcional complejo, destacando por su capacidad ligninolítica. Fue uno de los pocos aislados con alta capacidad para decolorar el colorante RBBR (+++) y el único con reacción positiva al guayacol, lo que indica actividad oxidativa. Aunque no se detectó actividad lacasa cuantificable (0 U L^{-1}), se evidenció actividad de lignina peroxidasa (268.82 U L^{-1}), confirmando su potencial para degradar compuestos aromáticos complejos como los presentes en la lignina. Además, exhibió actividad amilasa intensa (+++) y proteasa moderada (+), lo que sugiere un repertorio enzimático versátil.

El género *Oudemansiella* incluye hongos comestibles, asociados con la podredumbre blanca, pertenecientes a la familia Physalacriaceae (*Basidiomycota*), sus especies se han reportado a nivel mundial, pero no hay registro en la Antártida. Recientemente este género ha sido estudiado en contextos de biorremediación y producción de metabolitos (Alberti *et al.*, 2021).

IARK *et al.* (2019) reportaron la producción de lacasa por *O. canarii* en sistemas de fermentación en estado sólido (bagazo de caña-trigo), con una actividad máxima de 80.0 ± 5.0 U g^{-1} después de 10 días de cultivo a 28 °C. En contraste, en el presente trabajo no se detectó actividad lacasa, pero sí se registró una actividad de lignina peroxidasa, lo que sugiere una variación metabólica dependiente del ambiente o una influencia del sustrato empleado para su crecimiento.

Los aislados RWB13 y PWB13, identificados como *Pseudogymnoascus* spp. (≥99.6 %), son hongos ascomicetos bien conocidos por habitar regiones polares y ser

constantemente reportados en la Antártica (MACHADO *et al.*, 2022). Diversos estudios han documentado su producción de metabolitos secundarios bioactivos y enzimas con potencial biotecnológico, como amilasas, celulasas, proteasas y lipasas (DUARTE *et al.*, 2017). Esta versatilidad metabólica permite su adaptación a múltiples nichos ecológicos, especialmente en suelos pobres en nutrientes.

El aislado RWB5, identificado como *Thelebolus microsporus* (100 %), corresponde a una especie psicrófila, halófila y coprófila, ampliamente distribuida en ecosistemas antárticos (LEOTTA; REINOSO, 2009). Su presencia se ha registrado en zonas de anidación de aves y en sustratos orgánicos como excrementos, plumas, líquenes y musgos (SINGH *et al.*, 2013).

De acuerdo con SINGH *et al.* (2013), *Thelebolus microsporus* presenta adaptaciones bioquímicas relevantes, como la síntesis de pigmentos carotenoides y ácidos grasos específicos (mirístico, palmítico, esteárico, heptadecanoico y linoleico).

En dicho estudio también se reportó actividad positiva para amilasa y lipasa, coincidiendo con nuestros resultados, donde se detectó actividad amilasa elevada (+++) y lipasa cuantificable (3.83 U L^{-1}). En cambio, no se evidenció actividad proteasa, lo que podría reflejar cierta especialización enzimática.

Estos hallazgos, junto con lo descrito por SINGH *et al.* (2013), refuerzan el potencial de *T. microsporus* como candidato para aplicaciones industriales en condiciones frías, especialmente en las industrias de detergentes, textiles y alimentaria.

Los aislados PPH4 y PPH11, provenientes de Punta Hennequin mostraron 100% de similaridad con el género *Mortierella* sp. (100 %), en la Antártida, este género ha sido reportado en hábitats diversos como musgos, líquenes, suelos y rizósferas (FIGUEREDO *et al.*, 2019). Según TELAGATHOTI *et al.* (2022). Las especies del género *Mortierella* presentan una notable diversidad ecológica y suelen encontrarse en suelos ricos en materia orgánica, incluso bajo condiciones de nieve persistente.

La presencia de estos hongos en suelos con vegetación no es casual. Según NGUYEN *et al.* (2019), varias especies de *Mortierella* son capaces de sintetizar ácidos grasos de interés como el γ-linolénico y el araquidónico, y participan activamente en la adquisición de fósforo al asistir a cultivos y hongos micorrízicos. Además, pueden secretar ácido oxálico y poseen una destacada capacidad para descomponer hojarasca vegetal y degradar hidrocarburos policíclicos aromáticos. Estas funciones subrayan su importancia ecológica en suelos antárticos con cobertura vegetal, donde contribuyen tanto a la dinámica

de nutrientes como al mantenimiento de la actividad biológica en condiciones ambientales extremas.

Desde el punto de vista funcional, ambos aislados (PPH4 y PPH11) mostraron actividad lipasa, lo que respalda su capacidad para la degradación de lípidos en ambientes fríos. Este hallazgo es coherente con lo reportado por MELO *et al.* (2013), quienes describieron en *Mortierella alpina* una alta producción de ácidos grasos poliinsaturados, junto con destacada actividad antioxidante y antimicrobiana.

En conjunto, los aislamientos identificados reflejan una comunidad fúngica dominada por hongos saprótrofos y psicrótrofos, con capacidades metabólicas que podrían contribuir significativamente a los ciclos biogeoquímicos en suelos antárticos. Además, la presencia de géneros como *Oudemansiella*, *Mortierella* y *Thelebolus* apunta al potencial uso biotecnológico de estos hongos en procesos de degradación enzimática bajo condiciones extremas.

4.3 Análisis de la comunidad fúngica mediante herramientas metagenómicas

Tras la secuenciación se obtuvieron un total de 31.462 lecturas para la muestra de Punta Hennequin y 27.979 lecturas para la muestra de *Whalers Bay*, con un tamaño promedio de 100 pb por lectura. Esto corresponde a una profundidad de secuenciación aproximada de 6,3 millones de pares de bases (Mbp) para Punta Hennequin y 5,6 Mbp para *Whalers Bay*.

La asignación taxonómica de los reads mediante Kraken2, refinada con Bracken, mostró que solo un pequeño porcentaje de las secuencias pudo ser clasificado a nivel de filo y género. En total, se logró asignar el 0.16% de lecturas en la muestra de *Whalers Bay* y el 0.19% de lecturas en la muestra de Punta Hennequin.

La mayoría de las lecturas permanecieron sin clasificar (99.84% y 99.81%, respectivamente), esto puede atribuirse a la limitada representación de hongos antárticos en las bases de datos actuales.

En este estudio, la clasificación taxonómica obtenida a partir de los datos de metagenómica *shotgun* se interpreta como una aproximación exploratoria. Dado que este enfoque se basa en la secuenciación aleatoria de fragmentos genómicos, y no en genes marcadores específicos, la asignación taxonómica a nivel de género presenta ciertas limitaciones en precisión. Por ello, los resultados sobre la composición y diversidad fúngica

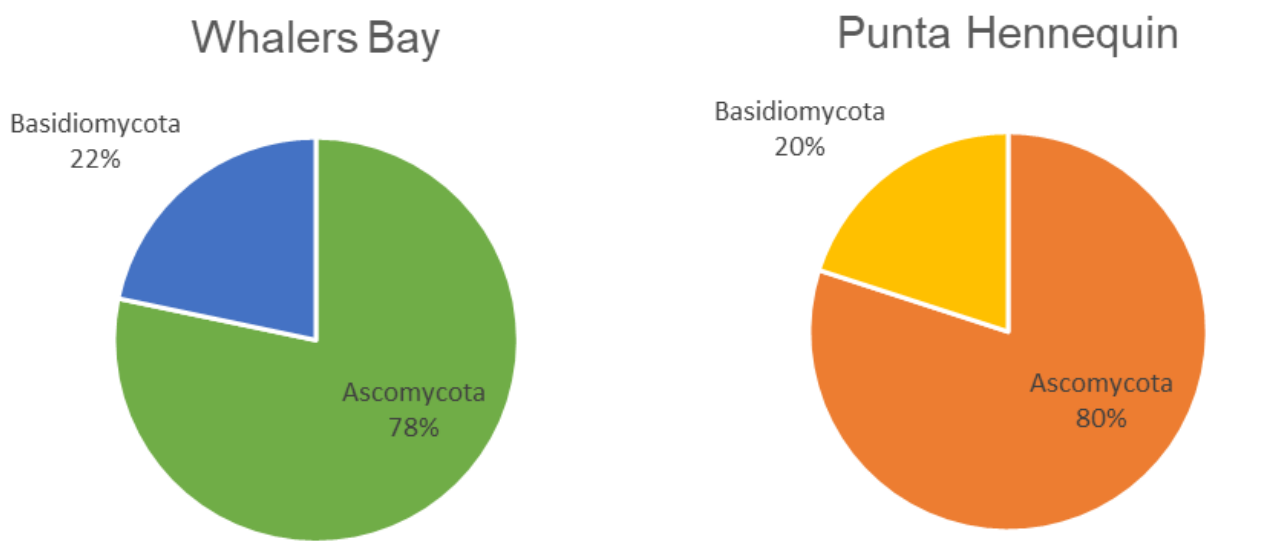
deben entenderse como tendencias generales, más que como valores definitivos, ya que reflejan patrones indicativos de la estructura microbiana en los sitios analizados.

Como señala QUINCE *et al.* (2017), la profundidad de secuenciación es un factor determinante en la capacidad de detectar taxones de baja abundancia y de reconstruir perfiles funcionales completos. En el contexto de este estudio, la profundidad alcanzada y las limitaciones de las bases de datos disponibles condicionaron la resolución taxonómica y funcional obtenida.

4.3.1 Diversidad fúngica

Como se observa en la figura 18, el filo Ascomycota fue el predominante en ambos sitios. Se identificaron un total de 20 géneros fúngicos en Punta Hennequin y 23 géneros en *Whalers Bay*. Ascomycota representó el 80,0 % de los géneros en Punta Hennequin y el 78,3 % en *Whalers Bay*, mientras que Basidiomycota estuvo presente en menor proporción, con el 20,0 % y 21,7 %, respectivamente.

Figura 18. Distribución por filo en Punta Hennequin y *Whales Bay*

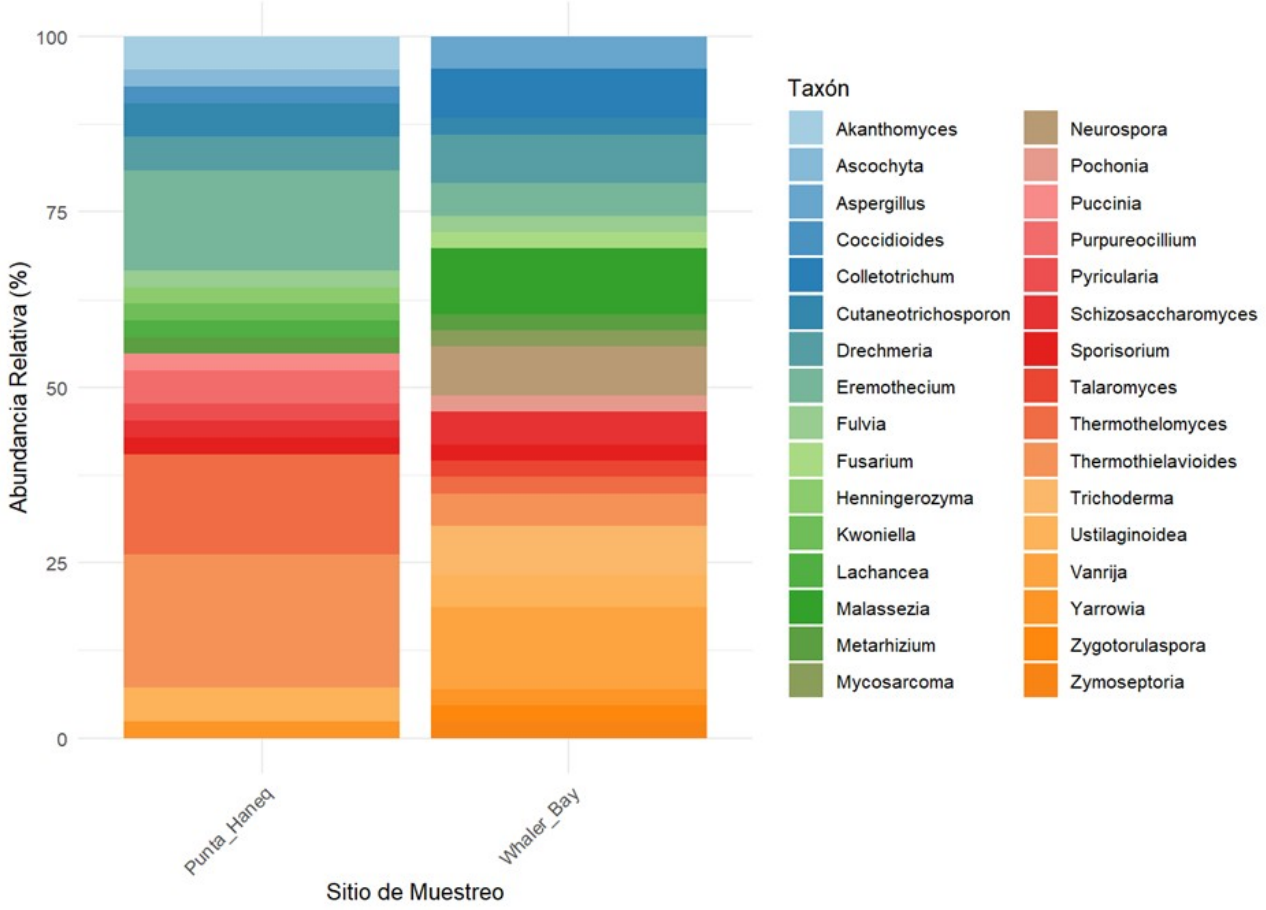


Fuente: autoría propia.

Los géneros fúngicos identificados en este estudio (32 en total) se compararon con la bibliografía a partir de estudios previos. Del análisis se obtuvo que: 22 géneros coincidieron con los registrados en la literatura, lo que representa un 68,75% de similitud con los taxones previamente documentados en la región.

El análisis de abundancia relativa a nivel de género reveló varios géneros compartidos entre ambos sitios (Figura 19). Entre ellos destacan *Thermothielavioides, Thermothelomyces, Ustilaginoidea, Metarhizium, Fulvia, Eremothecium, Yarrowia, Cutaneotrichosporo*n, *Sporisorium*, *Drechmeria* y *Schizosaccharomyces* también estuvieron presentes en ambos sitios, pero con mayor representación en *Whalers Bay*.

Figura 19. Abundancia relativa de géneros de hongos encontrados en Punta Hennequin y *Whalers Bay*



Fuente: autoría propia.

En cuanto a los géneros predominantes por sitio, en Punta Hennequin destacaron *Thermothielavioides* (19,0 %), *Thermothelomyces* (14,3 %) y *Eremothecium* (14,3 %). Además, se detectaron géneros como *Purpureocillium*, *Akanthomyces*, *Ascochyta*, *Coccidioides*, *Lachancea*, *Henningerozyma*, *Kwoniella* y *Puccinia*, ausentes en *Whalers Bay*.

En *Whalers Bay*, los géneros más abundantes fueron *Vanrija* (11,6 %), *Malassezia* (9,3 %), *Trichoderma, Colletotrichum* y *Neurospora* (todos en torno al 7,0 %), junto con *Aspergillus, Talaromyces, Zymoseptoria, Zygotorulaspora, Mycosarcoma* y *Pochonia*, géneros que no se detectaron en Punta Hennequin.

Estos hallazgos sugieren la existencia de un núcleo común de géneros en ambas comunidades, pese a las diferencias ambientales locales. El perfil taxonómico indica que Punta Hennequin presenta una comunidad más dominada por unos pocos géneros principales, mientras que *Whalers Bay* muestra una mayor riqueza taxonómica, lo que podría estar relacionado con diferencias en las condiciones ambientales o la diferencia del impacto antropogénico entre ambos sitios.

Uno de los principales desafíos al estudiar comunidades fúngicas en la Antártida es distinguir especies nativas de aquellas transitorias, introducidas o endémicas. La dispersión de esporas a largas distancias (mediada por viento, fauna o actividad humana) y la capacidad de muchos hongos de persistir como esporas viables dificultan determinar si su presencia implica un rol ecológico activo o es transitoria (MARSHALL, 1996).

En este estudio se detectaron los géneros *Thermothielavioides* y *Thermothelomyces* en ambos sitios muestreados, al ser termófilos, su presencia en un ambiente frío podría deberse a dispersión de esporas, influencia antrópica o microhábitats favorables, como suelos con actividad térmica o materia en descomposición (ARENZ; BLANCHETTE; FARRELL, 2014). Por su carácter cosmopolita y afinidad por ambientes cálidos, su detección debe interpretarse con cautela, ya que podrían ser colonizadores oportunistas o contaminantes más que integrantes funcionales de la comunidad local.

Este fenómeno es común en la región, donde hongos como *Alternaria, Penicillium, Aspergillus* y *Cladosporium* son frecuentes, aunque su rol ecológico suele ser incierto debido a su alta capacidad de dispersión y posible origen antropogénico (ARENZ; BLANCHETTE; FARRELL, 2014).

PEARCE *et al.* (2012) evaluaron la biodiversidad y el potencial funcional de comunidades microbianas en suelos de Mars Oasis, Isla Alexander, en la Antártida Marítima. Aunque los hongos no estuvieron altamente representados en esa comunidad, identificaron algunos géneros que también se detectaron en este estudio: *Neurospora, Schizosaccharomyces, Eremothecium, Lachancea* y *Talaromyces.* En nuestras muestras, *Schizosaccharomyces* presentó una abundancia relativa de 2,38 % en Punta Hennequin y 4,65 % en *Whalers Bay*; *Lachancea* se registró solo en Punta Hennequin (2,38 %); *Talaromyces* únicamente en *Whalers Bay* (2,32 %); *Eremothecium* mostró valores elevados en Punta Hennequin (14,28 %) y 4,65 % en *Whalers Bay*; mientras que *Neurospora* se detectó solo en *Whalers Bay* (6,97 %). Estas coincidencias refuerzan la hipótesis de que estos géneros poseen estrategias adaptativas que les permiten persistir en distintos ambientes terrestres de la Antártida, a pesar de sus condiciones extremas.

El hallazgo de *Talaromyces* en las muestras de suelo de *Whalers Bay* es relevante, dada la escasa información sobre su presencia en ambientes antárticos. Recientemente, SHEAU *et al.* (2023) reportaron por primera vez este género en la Isla Decepción, donde una cepa aislada de suelo bajo pasto en descomposición mostró capacidad para producir compuestos antimicrobianos de amplio espectro y enzimas degradadoras de carbono.

Nuestros resultados también coinciden con lo reportado por COSTA *et al.* (2018) en la Bahía Almirantazgo, donde se identificaron *Pochonia* y *Trichoderma* en suelos asociados a raíces de *Deschampsia antarctica* y *Colobanthus quitensis*. En este estudio, ambos géneros se detectaron en *Whalers Bay*, con abundancias relativas de 6,97 % (*Trichoderma*) y 2,32 % (*Pochonia*).

De forma consistente, se observaron coincidencias con el estudio de ZHANG *et al.* (2023) en el fiordo de Kongsfjorden (Svalbard), donde se identificaron géneros como *Yarrowia*, *Ustilaginoidea*, *Puccinia* y *Metarhizium*, también presentes en nuestras muestras. Esto sugiere que ciertos grupos fúngicos tienen una notable capacidad de adaptación y dispersión en ambientes polares, tanto marinos como terrestres.

También, PASSARINI *et al.* (2024) reportaron géneros asociados a fitopatogenicidad (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Colletotrichum*) y control biológico (*Trichoderma*, *Metarhizium*, *Pochonia*) en suelos de *Whalers Bay*. En este estudio, dichos géneros presentaron abundancias relativas superiores a las reportadas previamente, destacando *Aspergillus* (4,65 %), *Fusarium* (6,97 %) y *Colletotrichum* (2,32 %).

En cuanto a hongos con potencial de control biológico, PASSARINI *et al.* (2024) reportaron en *Whalers Bay* a *Trichoderma* (0,76 %), *Metarhizium* (0,76 %) y *Pochonia* (0,5 %). En este estudio, dichos géneros mostraron abundancias mayores: *Trichoderma* (6,97 %) y *Pochonia* (2,32 %) se detectaron solo en *Whalers Bay*, mientras que *Metarhizium* estuvo presente en ambos sitios (2,32 %).

Asimismo, los géneros *Ascochyta*, *Malassezia* y *Vanrija*, también identificados aquí, ya habían sido reportados en ambientes antárticos (BRIDGE; SPOONER, 2012). Estos hongos presentan roles diversos: *Ascochyta* incluye especies fitopatógenas necrotróficas (ej. *A. rabiei*); *Malassezia* es una levadura lipofílica de comportamiento comensal, mutualista o patógeno; y *Vanrija*, aunque ambientalmente ubicua, puede actuar como patógeno oportunista.

En Punta Hennequin, se detectaron *Purpureocillium* y *Akanthomyces* (4,7 % cada uno), géneros previamente vinculados al microbioma marino de la antártica (VARRELLA *et al.*, 2021). Su hallazgo en suelos casi prístinos sugiere su capacidad de adaptación a

distintos nichos, donde podrían desempeñar funciones como entomopatógenos, micoparásitos o saprótrofos.

Cutaneotrichosporon se registró en ambos sitios (4,7 % en *Punta Hennequin*, 2,3 % en *Whalers Bay*), este género fue reportado por primera vez en la Antártida durante una expedición japonesa en 1961 por TSUJI; HOSHINO (2019). Por su parte, *Kwonniella* se encontró exclusivamente en Punta Hennequin (2,3 %); su reporte en la región es escaso, lo que resalta la importancia de este hallazgo como aporte al conocimiento de la micobiota antártica.

Finalmente, este estudio documentó géneros no reportados o raramente citados en suelos antárticos, como *Thermothielavioides*, *Thermothelomyces*, *Pyricularia*, *Fulvia*, *Coccidioides*, *Henningerozyma*, *Zymoseptoria*, *Zygotorulaspora*, *Mycosarcoma* y *Sporisorium*. Esto subraya la existencia de una diversidad fúngica aún poco explorada en estos ecosistemas extremos y sugiere posibles registros novedosos para la región.

Por su parte, *Pyricularia, Fulvia, Zymoseptoria, Sporisorium* y *Mycosarcoma* son fitopatógenos típicos de regiones templadas y tropicales (BAUDIN *et al.*, 2024; DE LA ROSA *et al.*, 2024; PROM *et al.*, 2024; FAGUNDES; HAUEISEN; STUKENBROCK, 2020; SIPICZKI, 2020). Su detección en suelos con vegetación limitada, como los antárticos, sugiere que su presencia podría explicarse por la llegada de esporas mediante dispersión natural o influencia antrópica.

Asimismo, la identificación de *Coccidioides*, hongo de relevancia médica asociado a ambientes áridos y semiáridos (KIRKLAND *et al.*, 2022), y de *Henningerozyma*, una levadura poco documentada (LIU *et al.*, 2024), resulta particularmente llamativa y representa posibles registros inéditos para la región.

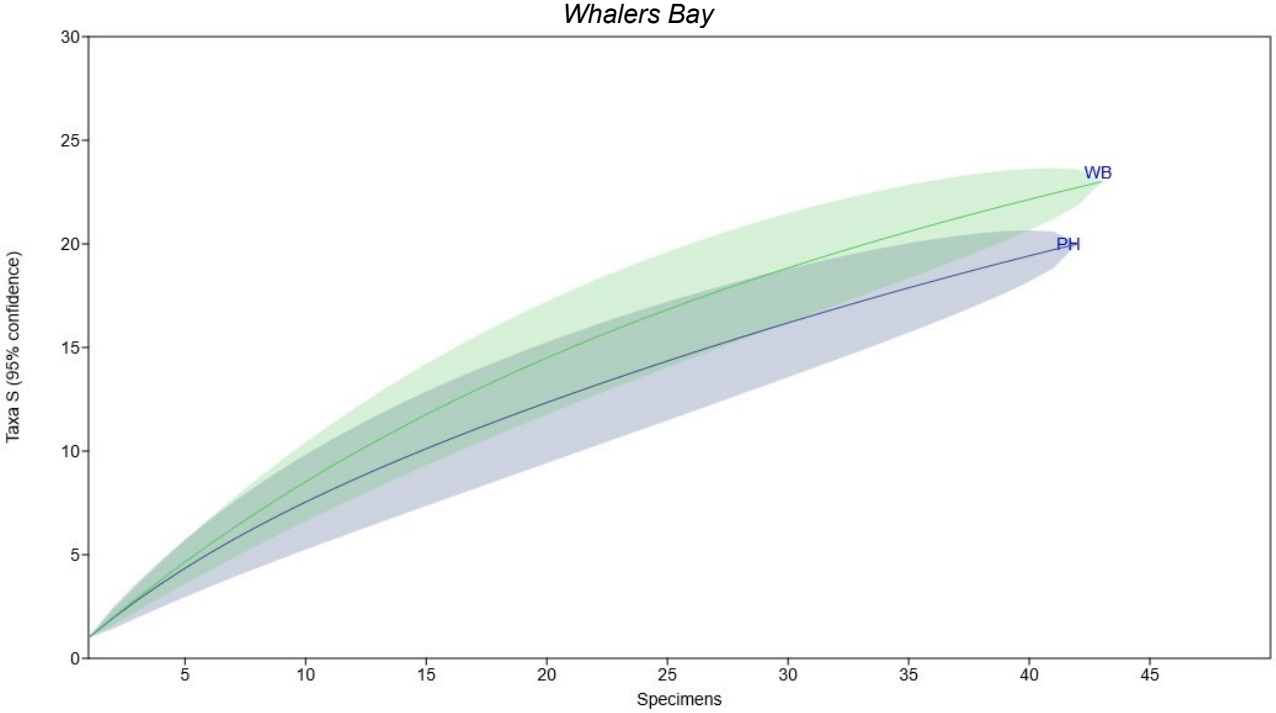
El hallazgo de *Zygotorulaspora*, género vinculado a procesos fermentativos y hábitos saprótrofos (NIKULIN *et al.*, 2020), refuerza la hipótesis de que algunos de estos hongos podrían llegar por dispersión pasiva, contaminación ambiental o poseer estrategias de resistencia que les permitan persistir temporalmente en condiciones polares extremas.

En conjunto, estos resultados no solo amplían el conocimiento de la diversidad fúngica en suelos antárticos, sino que plantean nuevas preguntas sobre la capacidad de ciertos hongos para colonizar ambientes fríos, los microhábitats que podrían actuar como refugio y las dinámicas ecológicas que facilitan su persistencia transitoria en estos ecosistemas.

4.3.2 Índices de diversidad

La curva de rarefacción de especies no alcanzó la asíntota horizontal en ninguno de los sitios evaluados, lo que sugiere que el número de muestras analizadas (n=1 por sitio) no fue suficiente para captar la totalidad de la diversidad presente. A continuación en la figura 20 se observa las curvas de rarefacción correspondientes a PH y WB.

Figura 20. Curvas de rarefacción de especies para las comunidades microbianas de Punta Hennequin y *Whalers Bay*



Nota: las áreas sombreadas indican el intervalo de confianza del 95%.
Fuente: autoría propia.

La diversidad alfa de las comunidades fúngicas de Punta Hennequin y *Whalers Bay* se evaluó mediante los índices de Shannon, Simpson (1-D) y Chao1. Los resultados se presentan en la tabla 8.

Tabla 8. Índices de diversidad de las comunidades fúngicas en los sitios muestreados

Sitio	Shannon	Simpson	Chao1
Punta Henneq	2.66	0.90	31.00
Whalers Bay	3.15	0.95	46.43

Fuente: autoría propia.

El índice de Shannon (H) presentó valores de 2.66 en Punta Hennequin y 3.15 en *Whalers Bay*. Este índice refleja tanto la riqueza como la equitatividad de las especies, y

valores por encima de 3 suelen interpretarse como comunidades altamente diversas (DOYTCHINOV; DIMOV, 2022). Por lo tanto, se observa una mayor diversidad en *Whalers Bay*.

Por su parte, el índice de Simpson (1-D), donde valores cercanos a 1 indican mayor diversidad y equitatividad, fue de 0.90 para Punta Hennequin y 0.95 para *Whalers Bay*, lo que confirma que *Whalers Bay* posee una comunidad más diversa y menos dominada por especies abundantes (DOYTCHINOV; DIMOV, 2022).

El índice Chao1, que estima la riqueza total incluyendo especies raras (ESCALANTE ESPINOSA, 2003), fue de 31 en Punta Hennequin, sugiriendo que la mayor parte de la riqueza fue capturada, mientras que en *Whalers Bay* alcanzó 46,4, lo que indica la posible presencia de taxones no detectados directamente. En conjunto, estos indicadores señalan una tendencia hacia una mayor diversidad y riqueza fúngica en *Whalers Bay*.

Este hallazgo es comparable con lo reportado por CENTURIÓN *et al.* (2022), quienes observaron mayor diversidad microbiana en áreas impactadas de la Isla Decepción mediante análisis metagenómico. Además, en este estudio, el aislamiento dependiente de cultivo mostró un 57,4 % de cepas fúngicas recuperadas en *Whalers Bay* y un 42,6 % en Punta Hennequin, lo que refuerza la tendencia hacia una mayor riqueza en el primer sitio.

Este patrón coincide en parte con MARTORELL *et al.* (2018), quienes reportaron un mayor aislamiento de hongos en suelos con alto contenido de materia orgánica e impacto por combustibles en la Isla Rey George. Aunque las diferencias entre los sitios aquí estudiados no son tan marcadas, ambos trabajos sugieren que ambientes más impactados o enriquecidos en nutrientes podrían favorecer comunidades fúngicas más diversas y abundantes.

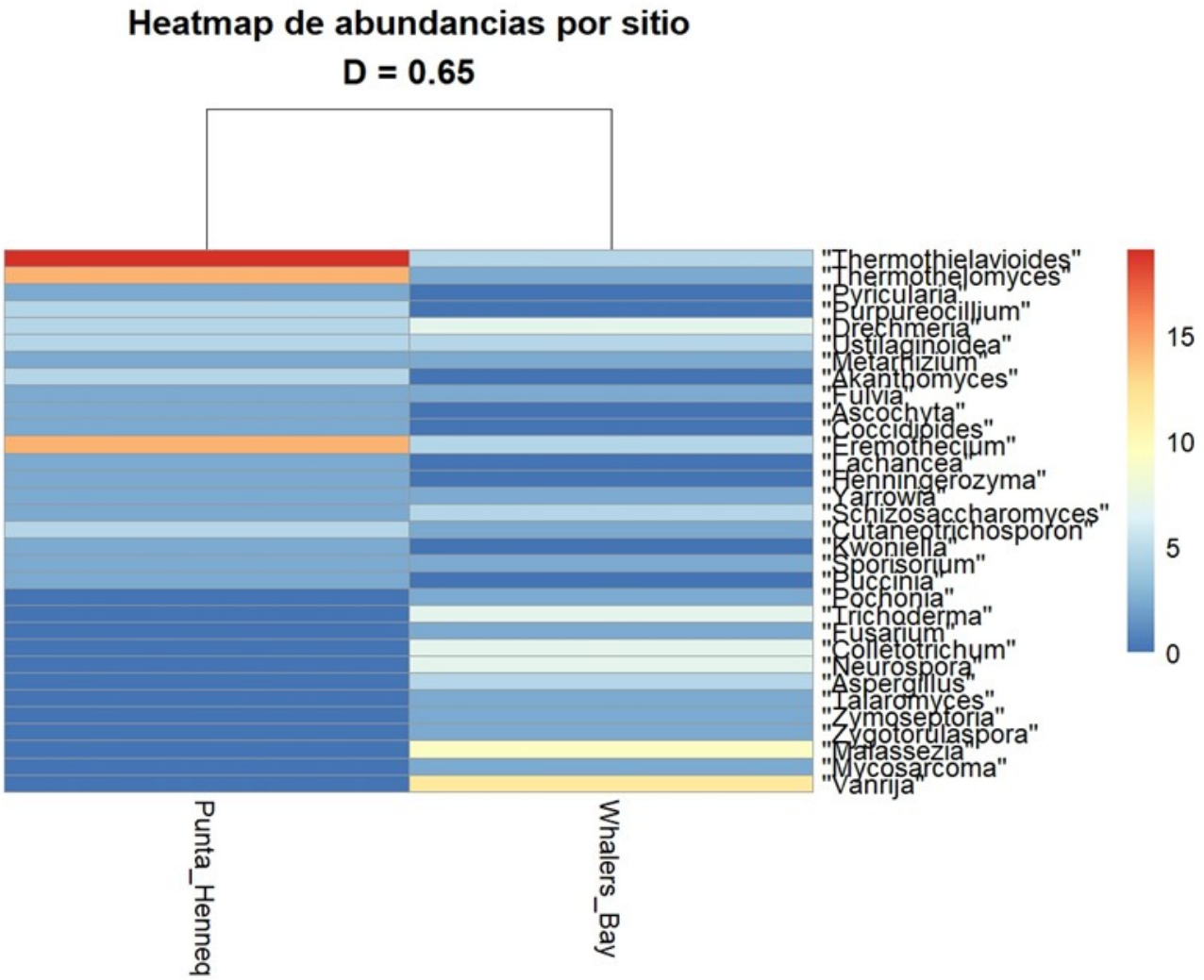
Por otro lado tenemos a la diversidad beta, que fue evaluada usando la distancia Bray-Curtis, el cual es un método útil para comparar la composición de especies entre diferentes muestras o comunidades (BRAY; CURTIS, 1957).

El índice de disimilitud de Bray-Curtis (0,65) indica una alta disimilitud (~65 %) entre las comunidades microbianas de Punta Hennequin y *Whalers Bay*, reflejando diferencias marcadas tanto en la composición taxonómica como en las abundancias relativas. Esto sugiere que, aunque ambos sitios comparten algunos taxones, sus proporciones varían sustancialmente.

La figura 21 muestra un heatmap con los patrones de abundancia relativa de los géneros fúngicos, donde se evidencian diferencias claras entre las comunidades. Algunos géneros son más abundantes en *Whalers Bay*, mientras que otros predominan en Punta

Hennequin; además, ciertos géneros están ausentes o en muy baja abundancia en uno de los sitios, reforzando la disimilitud observada.

Figura 21. Heatmap de las abundancias relativas de géneros fúngicos detectados en los sitios Punta Hennequin y *Whalers Bay*



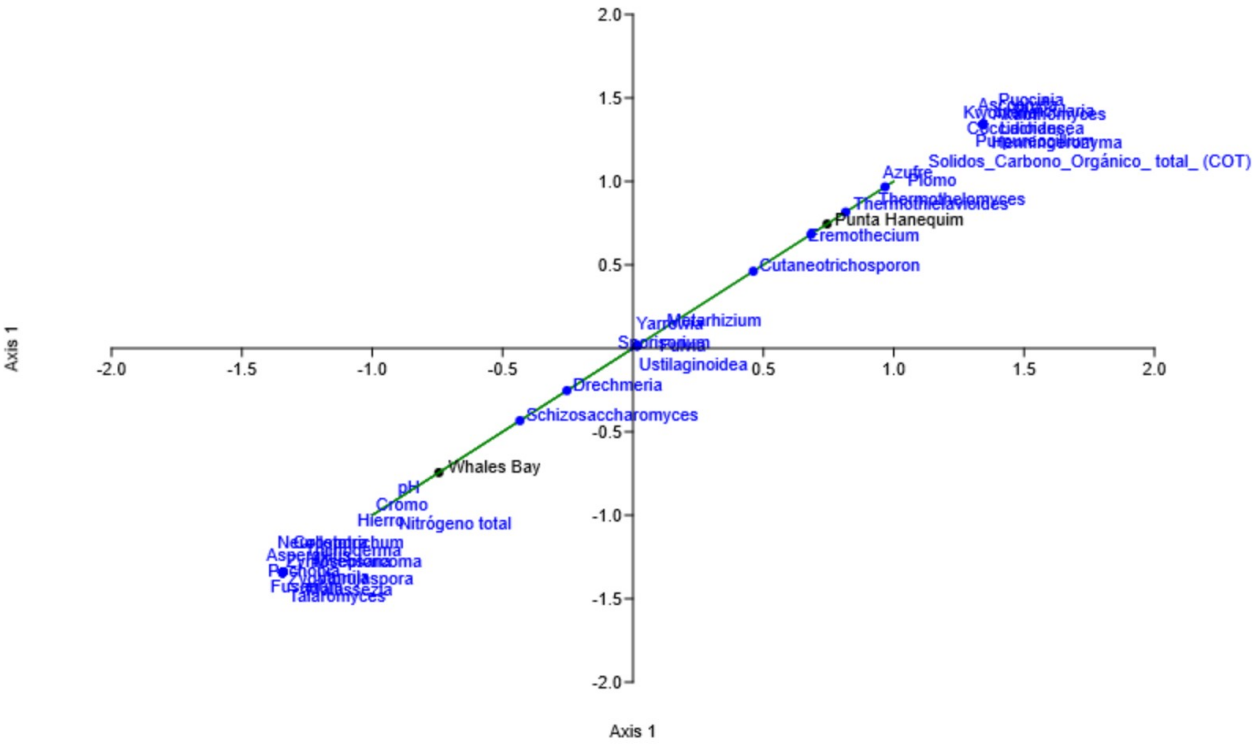
Nota: los colores representan los niveles de abundancia relativa, desde valores bajos (azul) hasta altos (amarillo o rojo).

Fuente: autoría propia.

4.3.3 Análisis de Correspondencia Canónica (CCA)

El CCA permitió explorar la relación entre las variables fisicoquímicas de los ambientes y la composición de géneros fúngicos en ambos sitios de muestreo (ver figura 22). Se evidenció una clara separación entre los dos sitios a lo largo del eje 1, lo que sugiere que las condiciones ambientales influyen significativamente en la distribución de los géneros fúngicos.

Figura 22. Análisis de Correspondencia Canónica (ACC), que muestra la relación entre las variables fisicoquímicas y la composición de géneros fúngicos en los sitios Punta Hennequin y *Whalers Bay*



Fuente: autoría propia.

El eje 1 explicó el 100% de la inercia total (eigenvalue = 0.55453), lo que sugiere una fuerte relación entre las condiciones ambientales y la estructura de las comunidades fúngicas.

Punta Hennequin se asocia positivamente con mayores concentraciones de carbono orgánico total (COT), azufre y plomo, lo que influye en la distribución de géneros como *Puccinia, Kwonniella, Lachancea, Coccidioides, Akanthomyces* y *Henningozyma*, los cuales aparecen cercanos a este sitio.

Géneros como *Eremothecium* y *Cutaneotrichosporon* mostraron una asociación moderada con el ambiente de Punta Hennequin, sugiriendo una posible afinidad con condiciones fisicoquímicas analizadas.

Por el contrario, *Whalers Bay* se agrupa en sentido opuesto, correlacionado con valores más altos de nitrógeno total, cromo, hierro y un pH más alcalino, así como con la presencia de géneros como *Aspergillus, Colletotrichum, Fusarium, Neurospora,*

Malassezia, Zygotorulaspora,Talaromyces y *Trichoderma,* lo que podría indicar una preferencia por ambientes más nitrogenados y asociado a presencia de metales.

Por su parte, los géneros *Drechmeria* y *Schizosaccharomyces* mostraron una asociación moderada con *Whalers Bay*, lo que sugiere que estos hongos están adaptados a condiciones menos influenciadas por la carga orgánica y metales.

Además, algunos géneros como *Ustilaginoidea, Sporisorium, Yarrowia, Fulvia* y *Metarhizium* se ubicaron en posiciones intermedias, lo que sugiere una distribución menos restringida a las condiciones particulares de cada sitio. Estos resultados reflejan que las variables fisicoquímicas son determinantes en la estructuración de las comunidades fúngicas en los ambientes antárticos estudiados.

En conjunto, los resultados del CCA destacan el papel modulador de las variables fisicoquímicas en la distribución de los géneros fúngicos, y refuerzan la hipótesis de que la estructura de la comunidad microbiana en ambientes antárticos puede estar determinada por la disponibilidad de nutrientes, la carga orgánica y la presencia de elementos traza o contaminantes.

Este hallazgo es consistente con lo reportado por estudios previos, que señalan que la heterogeneidad en la composición química de los suelos antárticos está fuertemente influenciada por factores como el pH, la textura del suelo, la disponibilidad de nutrientes y la altitud, los cuales ejercen un efecto en la estructura y función de las comunidades microbianas (DOYTCHINOV; DIMOV, 2022).

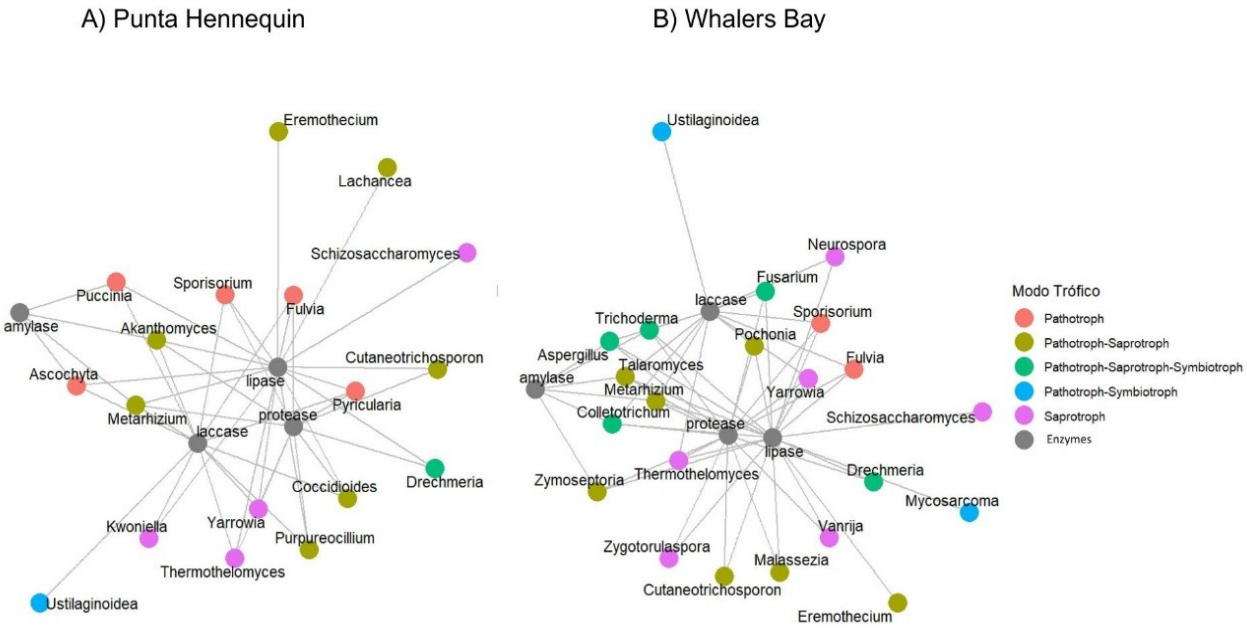
De forma complementaria RODRÍGUEZ *et al.* (2025), analizaron la diversidad y funcionalidad microbiana de suelos antárticos en los microbiomas rizosféricos de *Deschampsia antarctica* y *Colobanthus quitensis*. Mediante un análisis de redundancia (RDA), encontraron que la saturación de aluminio explicó el 18,57% de la variación en la composición microbiana, lo que evidencia que ciertos elementos químicos pueden ejercer una presión selectiva sobre la estructura de las comunidades microbianas en suelos antárticos.

En este sentido, los resultados de RODRÍGUEZ *et al.* (2025) refuerzan la evidencia de que la heterogeneidad fisicoquímica de los suelos antárticos (pH, disponibilidad de nutrientes, metales y contaminantes) constituyen un factor determinante en la organización de las comunidades microbianas antárticas.

4.3.4 Diversidad Funcional

Se observó una notable diversidad funcional dentro del microbioma fúngico caracterizado, revelada a través de las redes funcionales construidas para los géneros detectados en Punta Hennequin (A) y *Whalers Bay* (B). Las redes muestran la distribución de cinco enzimas extracelulares clave (lipasa, amilasa, proteasa, lignina peroxidasa y lacasa), junto con su respectiva asignación. Cabe destacar que la enzima Lignina peroxidasa (LIP) no fue encontrada en las bases de datos utilizadas, por lo que no aparece en los gráficos. Las métricas de centralidad calculadas, como el grado (degree) e intermediación (betweenness), permitieron identificar los géneros con mayor relevancia estructural en cada comunidad. En la figura 23, se visualizan ambas redes, donde los nodos representan géneros fúngicos y enzimas, mientras que los enlaces indican relaciones funcionales compartidas entre taxones, evidenciando diferencias en la organización ecológica y funcional entre ambos sitios.

Figura 23. Red funcional de géneros fúngicos en A) Punta hennequin y B) *Whalers Bay*, coloreada según el guild ecológico asignado



Nota: el grafico muestra las conexiones funcionales entre los géneros fúngicos detectados en cada sitio. El *grado* indica cuántas funciones enzimáticas están asociadas a cada género, es decir, su nivel de conectividad directa. La *intermediación* representa cuántas veces un género actúa como puente entre otros nodos, reflejando su importancia estructural en la red para mantener la conectividad funcional.

Fuente: autoría propia.

En Punta Hennequin, la red funcional estuvo dominada por nodos asociados a modos tróficos patógeno-saprotrofo y patógeno. *Metarhizium* y *Akanthomyces* destacaron por su alta centralidad de intermediación (betweenness = 7,02), actuando como conectores clave entre funciones. *Ascochyta* y *Puccinia* mostraron valores intermedios (betweenness = 4,34), mientras que *Lachancea*, *Schizosaccharomyces* y *Eremothecium* presentaron baja conectividad (degree = 1; betweenness = 0), ocupando posiciones periféricas en la red.

El suelo de Punta Hennequin, protegido por musgo y rico en C, N, S y Fe, parece favorecer la coexistencia de hongos patógenos, saprótrofos y simbiontes, lo que sugiere un ecosistema con procesos de reciclaje bien establecidos. Esto coincide con lo señalado por PRATER *et al.* (2021), quienes destacan el papel de la vegetación en el desarrollo del suelo en ambientes polares. Los géneros *Thermothielavioides* y *Thermothelomyces*, dominantes en la comunidad, están asociados a la descomposición de materia orgánica en ambientes estables. *Metarhizium* y *Akanthomyces*, conocidos entomopatógenos (ONDRÁČKOVÁ; SEIDENGLANZ; ŠAFÁŘ, 2019), podrían contribuir al control biológico de invertebrados y a la degradación secundaria de materia orgánica. Los fitopatógenos *Ascochyta* y *Puccinia* podrían interactuar con musgos o plantas locales (SINGH *et al.*, 2022). Las levaduras periféricas, como *Lachancea* y *Schizosaccharomyces*, podrían estar limitadas por las condiciones ambientales, mientras que *Eremothecium* se considera potencialmente fitopatógeno (DONG *et al.*, 2024).

En *Whalers Bay*, la red fue más compleja y conectada. *Metarhizium*, *Trichoderma*, *Colletotrichum*, *Aspergillus* y *Talaromyces* fueron nodos centrales (degree = 4; betweenness = 5,55), asociados a múltiples funciones y enzimas. Estos géneros, con modos tróficos combinados (patógeno, saprofito, simbionte), reflejan un potencial ecológico elevado para el reciclaje de materia orgánica y la tolerancia a metales. Por el contrario, *Ustilaginoidea*, *Schizosaccharomyces*, *Eremothecium* y *Mycosarcoma* tuvieron baja conectividad, lo que sugiere un papel más limitado en la red.

La comunidad de *Whalers Bay*, influenciada por actividad antropogénica y altos niveles de carbono y hierro, parece estructurada para sostener procesos de reciclaje y resistencia a metales (BALLAND *et al.*, 2025). *Trichoderma* y *Aspergillus* probablemente actúan como degradadores primarios, mientras que *Metarhizium* y *Colletotrichum* podrían combinar parasitismo con saprotrofía. *Talaromyces*, versátil y tolerante a metales (NKUNA; MATAMBO, 2024), podría participar en la mineralización y resistencia al hierro.

En conjunto, *Whalers Bay* opera como un sistema funcionalmente integrado, donde los géneros centrales facilitan el reciclaje y la tolerancia a metales, mientras los periféricos

cumplen funciones específicas. Punta Hennequin, en contraste, presenta una red menos compleja, con nodos dominantes asociados a la vegetación local y a la estabilidad del microecosistema. Estos resultados reflejan estrategias funcionales distintas y destacan el valor de las comunidades fúngicas como bioindicadores, así como su potencial para aplicaciones en biotecnología ambiental y conservación de ecosistemas polares.

4.2.5 Anotación funcional

Se obtuvieron 20 anotaciones genéticas de las cuales únicamente a 10 se les infiere funcionalidad, sin embargo, las restantes no mostraron coincidencias con las bases de datos de *InterPro* para la detección de su posible función. Este resultado sugiere la complejidad y singularidad de las secuencias analizadas, probablemente asociadas a microorganismos poco explorados o con baja representación en bases de datos.

Además, la profundidad de secuenciación alcanzada no resultó óptima para este tipo de análisis. Una mayor cobertura permitiría abarcar metagenomas más completos de los suelos antárticos y obtener información funcional más representativa. Según EKBLOM; WOLF (2014), cuando se emplean tecnologías de secuenciación de lectura corta, es fundamental alcanzar una cobertura superior a 100× para obtener ensamblajes de calidad. Una cantidad insuficiente de datos puede generar ensamblajes altamente fragmentados y dificultades posteriores en la anotación funcional.

Otro factor que pudo haber influido en los resultados es la baja proporción de ADN fúngico presente en las matrices ambientales. Este aspecto constituye un desafío común en los análisis metagenómicos de suelos antárticos, donde el ADN bacteriano suele dominar (BALDRIAN, 2019; LINDAHL *et al.*, 2013). Diversos estudios han demostrado que la aplicación de métodos de enriquecimiento como el precrecimiento selectivo, la extracción diferencial de micelio o la depleción de ADN bacteriano puede mejorar la representación de genomas fúngicos en las bibliotecas de secuenciación (AWAD; PENA, 2023).

El análisis funcional evidenció variaciones en funciones regulatorias, enzimáticas y metabólicas entre sitios que reflejan las capacidades adaptativas de los microorganismos presentes. Las funciones genéticas detectadas se encuentran en la tabla 9.

Tabla 9. Resumen de los dominios proteicos identificados en las muestras de Punta Hennequin y *Whalers Bay*

Sitio	Domínios encontrados	Función
Punta Hennequim	S1 domain profile S1 RNA binding domain S1_6 30S RIBOSOMAL PROTEIN S1 protein RRP5 homolog Nucleic acid-binding proteins Homeodomain-like Homeodomain-like domain	Unión a RNA/DNA: Interacción con RNA o DNA para traducción, procesamiento de RNA o regulación génica (KORASICK; JEZ, 2016; MANNERVIK, 1999; DERYUSHEVA *et al.*, 2024) .
	Signal peptide region N-terminal region of a signal peptide C-terminal region of a signal peptide Hydrophobic region of a signal peptide Region embedded in membrane Region outside membrane (extracellular/cytoplasmic)	Señalización y localización en membranas: dirigen proteínas hacia membranas, las insertan o en la transducción de señales (GRASSO *et al.*, 2023).
	PASTA domain PASTA domain profile PASTA_pknB	Sensor bacteriano / unión a antibióticos: dominios que se unen a antibióticos β-lactámicos y fragmentos de peptidoglicano. Están presentes en proteínas sensoras como PknB, una quinasa bacteriana que regula forma celular y crecimiento (YEATS; FINN; BATEMAN, 2002).
	L-2-HYDROXYGLUTARATE DEHYDROGENASE, MITOCHONDRIAL (L-2HGDH)	Enzimático / Metabólico: Cataliza la oxidación de L-2-hidroxiglutarato (L-2HG) a α-cetoglutarato (2KG) en la mitocondria, además actúa como enzima de reparación metabólica (ENGQVIST *et al.*, 2014).
	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains	Estructura común en enzimas que se unen a NAD^+/$NADP^+$ como cofactores. Presente en deshidrogenasas, reductasas y otras enzimas de metabolismo energético (MEDVEDEV *et al.*, 2021).
Whalers Bay	PEROXYUREIDOACRYLATE/ UREIDOACRYLATE AMIDOHYDROLASE-RELATED Isochorismatase-like hydrolases Isochorismatase domain	Enzimas que degradan compuestos derivados de pirimidinas o isocorismato. Participan en rutas de degradación de nucleótidos y biosíntesis de sideróforos (KIM *et al.*, 2010).
	Polysaccharide biosynthesis protein UDP-N-ACETYLGLUCOSAMINE 4,6-DEHYDRATASE	Enzimas implicadas en la síntesis de polisacáridos estructurales como cápsulas, flagelos o lipopolisacáridos. El dehydratase es clave en la ruta de pseudaminato, un azúcar bacteriano (SCHOENHOFEN *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2024).

Fuente: autoría propia.

Si bien el análisis funcional permitió identificar dominios asociados a procesos regulatorios, enzimáticos y metabólicos diferenciados entre Punta Hennequin y *Whalers Bay*, es importante destacar que el número de secuencias anotadas fue limitado, lo que restringe la posibilidad de obtener una visión robusta y representativa del perfil funcional de cada sitio. Por lo tanto, los resultados aquí presentados deben interpretarse como

tendencias exploratorias, útiles para proponer hipótesis sobre los mecanismos adaptativos microbianos en ambientes antárticos, pero no como una caracterización funcional completa del microbioma. A pesar de esta limitación, los dominios detectados reflejan rutas metabólicas y procesos moleculares coherentes con las condiciones ambientales de ambos sitios.

En Punta Hennequin los dominios relacionados con la interacción de ARN y ADN, como el S1, proteína ribosomal y los homeodominios, indican una comunidad activa en procesos de traducción, regulación génica y procesamiento de ARN (MANNERVIK, 1999;DERYUSHEVA *et al.*, 2024), permitiendo respuestas celulares rápidas. Por otro lado, los dominios de señalización y localización en membranas, incluyendo regiones de péptidos señal y segmentos transmembrana, permiten una regulación coordinada y multifuncional (GRASSO *et al.*, 2023), integrando señales ambientales y permitiendo respuestas celulares rápidas y precisas útiesl en ambientes extremos.

La detección de dominios PASTA, característicos de sensores bacterianos capaces de reconocer fragmentos de peptidoglicano y antibióticos β-lactámicos, sugiere la presencia de mecanismos de vigilancia ambiental y control del crecimiento en respuesta a señales externas. Estos dominios se han asociado con la regulación de la formación de biopelículas, la resistencia a antibióticos y, en última instancia, con la virulencia bacteriana (PENSINGER; SCHAENZER; SAUER, 2018).

La detección de la enzima mitocondrial L-2HGDH en el metagenoma de Punta Hennequim sugiere la existencia de mecanismos de reparación metabólica en los microorganismos del suelo antártico. Esta enzima convierte L-2-hidroxiglutarato en α-cetoglutarato, evitando la acumulación de metabolitos tóxicos y recuperando carbono para el ciclo de Krebs. Además, contribuye a la generación de energía mediante la transferencia de electrones a la cadena respiratoria (ENGQVIST *et al.*, 2014). En conjunto, su presencia refleja una adaptación microbiana a condiciones de baja disponibilidad de nutrientes y temperaturas extremas, favoreciendo la eficiencia metabólica y la supervivencia en el suelo de Punta Hennequin.

En conjunto, estos dominios sugieren un microbioma altamente activo en procesos de regulación génica, traducción, señalización celular y reparación metabólica, con capacidad de responder rápidamente a estímulos ambientales y optimizar el uso de nutrientes en el suelo de Punta Hennequin.

En el metagenoma de *Whalers Bay* se identificaron diversas funciones moleculares asociadas a la adaptación microbiana a un ambiente con impacto antropogénico con

abundantes óxidos metálicos. La presencia de dominios tipo Rossmann, asociados a la unión de cofactores $NAD(P)^+$, indica una actividad redox relacionada al metabolismo energético (MEDVEDEV *et al.*, 2019). Asimismo, se identificaron dominios peroxyureidoacrylate/ureidoacrylate amidohidrolase (RutB) implicados en la degradación de bases nitrogenadas, proceso clave tanto para el reciclaje de nutrientes en ambientes oligotróficos como para posibles mecanismos de detoxificación durante el catabolismo de nucleótidos (KIM *et al.*, 2010).

La detección de hidrolasas tipo isocorismatasa sugiere adaptaciones al metabolismo del hierro, proceso relevante en suelos impactados con óxidos metálicos (como el de *Whalers Bay*), los cuales, aunque ricos en hierro, presentan baja biodisponibilidad. Las enzimas isocorismatasas participan en la biosíntesis de sideróforos, moléculas especializadas en la captura y solubilización de hierro (GORAL *et al.*, 2012). También, se detectaron proteínas implicadas en la biosíntesis de polisacáridos y la modificación de la superficie celular, como la UDP-N-acetylglucosamine 4,6-dehydratase, que podrían facilitar la formación de biofilms, la movilidad bacteriana y la interacción con el entorno (SCHOENHOFEN *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2024).

Los dominios identificados reflejan una comunidad microbiana especializada en metabolismo redox, adquisición de hierro, degradación de compuestos nitrogenados y modificación de la superficie celular, lo que favorece la adaptación a un ambiente impactado por la actividad humana y/o volcánica, y enriquecido en óxidos metálicos.

Por lo tanto, las conclusiones aquí presentadas deben interpretarse como tendencias exploratorias, útiles para proponer hipótesis sobre los mecanismos adaptativos microbianos en ambientes antárticos, pero no como una caracterización funcional completa del microbioma.

De este modo, aunque la escasa profundidad de secuenciación y el bajo número de anotaciones limitan el alcance de las inferencias, los resultados obtenidos ofrecen una visión preliminar valiosa sobre las estrategias funcionales que podrían sostener la resiliencia microbiana en los suelos antárticos estudiados.

5 CONCLUSIONES

Este estudio evaluó la diversidad y estructura de comunidades fúngicas en dos suelos antárticos contrastantes: Punta Hennequin y *Whalers Bay*, mediante enfoques dependientes e independientes de cultivo. Se determinaron las características fisicoquímicas de los suelos en ambos sitios, evidenciándose diferencias en varios parámetros. Punta Hennequin presentó mayores valores de azufre y carbono orgánico total, mientras que *Whalers Bay* mostró concentraciones significativamente más altas de hierro y un pH ligeramente más alcalino.

Del total de 54 aislados, el 44,4 % presentó actividad enzimática, destacando proteasas, amilasas, lipasas y enzimas ligninolíticas, lo que confirma el potencial de los hongos antárticos como fuente de enzimas frías con aplicaciones biotecnológicas. Aunque los ensayos se realizaron con extractos crudos y sin optimización, los resultados constituyen una línea base sólida para futuros estudios de escalamiento y producción.Se secuenciaron los 10 aislados que mostraron las actividades enzimáticas más relevantes, lo que permitió identificar el género al que pertenecen y conocer su potencial biotecnológico.

El análisis metagenómico mostró un claro dominio de Ascomycota, con diferencias en riqueza y composición entre sitios: Punta Hennequin presentó menor diversidad y géneros dominantes con rasgos saprótrofos y patógenos, mientras que *Whalers Bay* exhibió mayor equitatividad y amplitud funcional, incluyendo tolerancia a metales y descomposición. La distribución de géneros estuvo fuertemente influenciada por parámetros fisicoquímicos locales.

Sin embargo, debido a la baja cobertura de secuenciación y al número reducido de anotaciones funcionales, los resultados deben interpretarse como tendencias exploratorias, que orientan sobre posibles patrones ecológicos y metabólicos, pero no representan una descripción exhaustiva del microbioma. La detección de géneros raros y potencialmente novedosos resalta la singularidad de los suelos antárticos y la necesidad de ampliar las bases de datos de referencia para mejorar la resolución taxonómica y funcional en futuros estudios.

La información in silico obtenida mediante la aproximación metagenómica constituye una base útil para la bioprospección de genes y enzimas con potencial biotecnológico. Las anotaciones funcionales identificadas orientan la selección de aislados promisorios para estudios de expresión y validación enzimática, así como para su caracterización genómica y

funcional, contribuyendo a la búsqueda de biocatalizadores psicrófilos aplicables en procesos sostenibles.

En conjunto, estos hallazgos demuestran que los hongos antárticos representan un recurso estratégico tanto ecológico como biotecnológico, con aplicaciones potenciales en biorremediación, alimentos y detergentes sostenibles, a la vez que subrayan la importancia de preservar ecosistemas polares frente al cambio climático y las presiones antrópicas.

6 REFERENCIAS

AKONDI, K. B.; LAKSHMI, V. V.. *Emerging trends in genomic approaches for microbial bioprospecting*. ***OMICS: a Journal of Integrative Biology***, v. 17, n. 02, p. 61-70, fev. 2013. Disponible en: < https://doi.org/10.1089/omi.2012.0082 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

ALBERTI, M. M. *et al.. Towards an optimal methodology for basidiomes production of naturally occurring species of the Genus oudemansiella* (*Basidiomycetes*). ***Current Microbiology***, v. 78, n. 04, p. 1256-1266, 26 fev. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02391-2>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ANDUALEM, B.. *Isolation and screening of amylase producing thermophilic spore forming Bacilli from starch rich soil and characterization of their amylase activities using submerged fermentation*. ***International Food Research Journal***, v. 21, n. 02, p. 831-837, 2014. Disponible en: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20143367097>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ARENZ, B. E.; BLANCHETTE, R. A.. *Distribution and abundance of soil fungi in Antarctica at sites on the Peninsula, Ross Sea Region and McMurdo Dry Valleys*. ***Soil Biology and Biochemistry***, v. 43, n. 02, p. 308-315, fev. 2011. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.10.016>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ARENZ, B. E.; BLANCHETTE, R. A.; FARRELL, R. L.. *Fungal diversity in Antarctic soils*. ***Antarctic Terrestrial Microbiology***, p. 35-53, 2014. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-45213-0_3>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ARORA, D. S.; GILL, P. K.. *Comparison of two assay procedures for lignin peroxidase*. ***Enzyme and Microbial Technology***, v. 28, n. 07-08, p. 602-605, maio 2001. Disponible en: < https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00302-7 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

AWAD, A.; PENA, R.. *An improved method for extraction of soil fungal mycelium*. ***MethodsX***, v. 11, p. 102477-102477, 01 dez. 2023. Disponible en: < https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102477 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

BABRAHAM BIOINFORMATICS. ***FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data [software].*** *Cambridge, UK*: *Babraham Institute*, 2011. Disponible en: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BALDRIAN, P.. *The known and the unknown in soil microbial ecology*. ***FEMS Microbiology Ecology***, v. 95, n. 02, 09 jan. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz005>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BALLAND, C. *et al.. Capacity of the fungi Trichoderma koningiopsis and Talaromyces verruculosus for Hg leaching, immobilization and absorption during the dissolution of*

Cinnabar. ***Applied Microbiology***, v. 05, n. 01, p. 12, 27 jan. 2025. Disponible en: < https://doi.org/10.3390/applmicrobiol5010012 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

BARATO , M. B.. ***Fungos derivados da Antártica***: *biodiversidade e produção de enzimas lignocelulolíticas a baixas e médias temperaturas*. *Orientadores*: SETTE, Lara Durães (*orientador*); RODRIGUES, André (*coorientador*). 73 *f.*. *Dissertação* (*Mestrado*) – PPG-CBMA (*Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Microbiologia Aplicada*) UNESP (*Universidade Estadual Paulista*), *Rio Claro*, 2014. Disponible en: <https://acervodigital.unesp.br/handle/11449/123106>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B.. ***Illustrated genera of imperfect fungi***. *St. Paul, MN, USA*: *Aps Press*, 2010. Disponible en: <https://www.amazon.com/Illustrated-Genera-Imperfect-Horace-Barnett/dp/0890541922>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BASELGA, A.; RODRÍGUEZ, C. G.. Diversidad alfa, beta y gamma: ¿cómo medimos diferencias entre comunidades biológicas?. ***Nova Acta Científica Compostelana***, v. 26, 06 dez. 2019. Disponible en: <https://biogeography-usc.org/pdfs/Baselga-Gomez-Rodriguez2019.pdf>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BAUDIN, M. *et al.. Pyricularia oryzae*: *lab star and field scourge*. ***Molecular Plant Pathology***, v. 25, n. 04, 01 abr. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/mpp.13449>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BENITO, S.. *Combined use of Lachancea thermotolerans and Schizosaccharomyces pombe in winemaking: a review*. ***Microorganisms***, v. 08, n. 05, p. 655, 30 abr. 2020. Disponible en: < https://doi.org/10.3390/microorganisms8050655 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

BERLEMONT, R. *et al.. Exploring the Antarctic soil metagenome as a source of novel cold-adapted enzymes and genetic mobile elements*. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 43, 2011. Disponible en: < https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412011000200005 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

BERNAL, S. P. F. *et al.. Biotechnological potential of microorganisms from textile effluent: isolation, enzymatic activity and dye discoloration*. ***Anais da Academia Brasileira de Ciências***, v. 93, n. 04, 2021a. Disponible en: < https://doi.org/10.1590/0001-3765202120191581 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

BERNAL, S. P. F. *et al.. Pharmaceutical biotechnological potential of filamentous fungi isolated from textile industry*. ***Archives of Microbiology***, v. 203, n. 07, p. 3933-3944, 21 maio 2021b. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02379-3>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BLUM, M. *et al. InterPro*: *the protein sequence classification resource in 2025*. ***Nucleic Acids Research***, v. 53, n. D1, 20 nov. 2024. Disponible en: < https://doi.org/10.1093/nar/gkae1082 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

BOCKHEIM, J. G. *et al.. Distribution of soil taxa in Antarctica: a preliminary analysis*. ***Geoderma***, v. 245-246, p. 104-111, maio 2015. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.01.017>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BOCKHEIM, J. G.; HAUS, N. W.. *Distribution of organic carbon in the soils of Antarctica*. *In*: HARTEMINK, A.; McSWEENEY, K. (eds.). ***Soil Carbon***. (*Progress in Soil Science*). *Cham, Switzerland*: *Springer*, p. 373-380, 2014. Disponible en: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-04084-4_37>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BOHU, T. *et al.. The role of fungi in the biogeochemical cycling of supergene gold and satellite transition metals*: *a potential new exploration tool*. ***Ore Geology Reviews***, v. 140, p. 104595, 27 nov. 2021. Disponible en: < https://doi.org/10.1016/j.oregeorev.2021.104595 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

BRAY, J. R.; CURTIS, J. T.. *An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin*. ***Ecological Monographs***, v. 27, n. 04, p. 325-349, out. 1957. Disponible en: < https://doi.org/10.2307/1942268 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

BRIDGE, P. D.; SPOONER, B. M.. *Non-lichenized Antarctic fungi: transient visitors or members of a cryptic ecosystem?*. ***Fungal Ecology***, v. 05, n. 04, p. 381-394, ago. 2012. Disponible en: < https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.01.007 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

BULLO, G. T. *et al.. Lipases: market study and potential applications of immobilized derivatives*. ***Biofuels Bioproducts and Biorefining***, v. 18, n. 05, p. 1676-1689, 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/bbb.2607>. Acceso em: 01 ago. 2025.

BUSWELL, J. A.; CAI, Y.; CHANG, S.. *Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and laccase production by Lentinula (Lentinus) edodes*. ***FEMS Microbiology Letters***, v. 128, n. 01, p. 81-87, abr. 1995. Disponible en: < https://doi.org/10.1016/0378-1097(95)00087-L >. Acceso em: 01 ago. 2025.

CARLOS, L. D. M.. **Potencial biorremediador de microrganismos isolados de sedimentos marinhos antárticos**. *Orientadores*: PASSARINI, Michel Rodrigo Zambrano (*orientador*); OTTONI, Julia Ronzella (*coorientador*). 65 *f*.. *Dissertação* (*Mestrado*) - PPG-BC (*Programa de Pós-Graduação em Biociências*), UNILA (*Universidade Federal da Integração Latino-Americana*), *Foz do Iguaçu*, 2022. Disponible en: <https://dspace.unila.edu.br/handle/123456789/6871>. Acceso em: 01 ago. 2025.

CARLOS, L. de M. *et al.. Bioprospecting the potential of the microbial community associated to Antarctic marine sediments for hydrocarbon bioremediation*. ***Brazilian Journal of***

Microbiology, v. 55, n. 01, p. 471-485, 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s42770-023-01199-5>. Acceso em: 01 ago. 2025.

CENTURION, V. *et al.. Comparing resistome profiles from anthropogenically impacted and non-impacted areas of two South Shetland Islands: maritime Antarctica*. ***Environmental Pollution***, v. 304, p. 119219, jul. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119219>. Acceso em: 01 ago. 2025.

CHANG, Y. *et al.. Degradation of toxic compounds at low and medium temperature conditions using isolated fungus*. ***CLEAN – Soil, Air, Water***, v. 44, n. 08, p. 992-1000, 12 maio 2016. Disponible en: < https://doi.org/10.1002/clen.201500753 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

COMENSOLI, L. *et al.. Iron and fungal physiology*. ***Advances in Applied Microbiology***, v. 98, p. 31-60, 2017. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/bookseries/advances-in-applied-microbiology/vol/101/suppl/C >. Acceso em: 01 ago. 2025.

CONG, B. *et al.. Isolation, characterization and transcriptome analysis of a novel Antarctic Aspergillus sydowii strain MS-19 as a potential lignocellulosic enzyme source*. ***BMC Microbiology***, v. 17, n. 01, 30 maio 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1028-0>. Acceso em: 01 ago. 2025.

DERYUSHEVA, E. I. *et al.. RNA-Binding S1 domain in bacterial, archaeal and eukaryotic proteins as one of the evolutionary markers of symbiogenesis*. ***International Journal of Molecular Sciences***, v. 25, n. 23, p. 13057, 04 dez. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms252313057>. Acceso em: 01 ago. 2025.

DONG, C. *et al.. Interactions of rhizosphere microbiota–environmental factors–pharmacological active ingredients of Eucommia ulmoides*. ***Planta***, v. 259, n. 03, p. 59, 05 fev. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04338-w>. Acceso em: 01 ago. 2025.

DOUGLAS, G. M. *et al.. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions*. ***Nature Biotechnology***, v. 38, n. 06, p. 685-688, jun. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>. Acceso em: 01 ago. 2025.

DOYTCHINOV, V. V.; DIMOV, S. G.. *Microbial community composition of the Antarctic ecosystems: review of the bacteria, fungi, and archaea identified through an NGS-based metagenomics approach*. ***Life***, v. 12, n. 06, p. 916, 18 jun. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/life12060916>. Acceso em: 01 ago. 2025.

DUARTE , A. W. F.. ***Biodiversidade de leveduras derivadas de ecossistemas antárticos marinhos e terrestres e prospecção de lipases***. *Orientadores*: SETTE, Lara Durães (*orientador*). 177 f.. *Tese* (*Doutorado*) - PPG-BIOTEC (*Programa de Pós-Graduação em*

Biotecnologia), USP (*Universidade de São Paulo*), *São Paulo*, 2015. Disponible en: <https://doi.org/10.11606/T.87.2015.tde-31082015-133533>. Acceso em: 01 ago. 2025.

DUARTE, A. W. F. *et al.. Taxonomic assessment and enzymes production by yeasts isolated from marine and terrestrial Antarctic samples*. ***Extremophiles***, v. 17, n. 06, p. 1023-1035, 11 out. 2013. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0584-y>. Acceso em: 01 ago. 2025.

DUARTE, A. W. F. *et al.. Production of cold-adapted enzymes by filamentous fungi from King George Island, Antarctica*. ***Polar Biology***, v. 03, p. 2511-2521, 05 set. 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2387-1>. Acceso em: 01 ago. 2025.

DUARTE, A. W. F. *et al.. Cold-adapted enzymes produced by fungi from terrestrial and marine Antarctic environments*. ***Critical Reviews in Biotechnology***, v. 38, n. 04, p. 600-619, 11 dez. 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1379468>. Acceso em: 01 ago. 2025.

DURÁN, P. *et al.. Occurrence of soil fungi in Antarctic pristine environments*. ***Frontiers in Bioengineering and Biotechnology***, v. 07, 07 mar. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00028>. Acceso em: 01 ago. 2025.

EDWIN, N. R. *et al.. An in-depth evaluation of metagenomic classifiers for soil microbiomes*. ***Environmental Microbiome***, v. 19, n. 01, p. 19, 28 mar. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00561-w>. Acceso em: 01 ago. 2025.

EICHLEROVÁ, I.; BALDRIAN, P.. *Ligninolytic enzyme production and decolorization capacity of synthetic dyes by saprotrophic white rot, brown rot, and litter decomposing basidiomycetes*. ***Journal of Fungi***, v. 06, n. 04, p. 301, 19 nov. 2020. Disponible en: < https://doi.org/10.3390/jof6040301 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

EKBLOM, R.; WOLF, J. B. W.. *A field guide to whole-genome sequencing, assembly and annotation*. ***Evolutionary Applications***, v. 07, n. 09, p. 1026-1042, 24 jun. 2014. Disponible en: < https://doi.org/10.1111/eva.12178 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

ENGQVIST, M. K. M. *et al.. Mitochondrial 2-hydroxyglutarate metabolism*. ***Mitochondrion***, v. 19, p. 275-281, nov. 2014. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mito.2014.02.009>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ESCALANTE ESPINOSA, T.. ¿Cuántas especies hay? Los estimadores no paramétricos de Chao. **Elementos: ciencia y cultura**, v. 52, p. 54-56, 2003. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/294/29405209.pdf>. Acceso em: 01 ago. 2025.

FAGUNDES, W. C.; HAUEISEN, J.; STUKENBROCK, E. H.. *Dissecting the biology of the fungal wheat pathogen Zymoseptoria tritici: a laboratory workflow*. ***Current Protocols in***

Microbiology, v. 59, n. 01, 11 nov. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/cpmc.128>. Acceso em: 01 ago. 2025.

FENICE, M. *et al.. Production of extracellular enzymes by Antarctic fungal strains*. ***Polar Biology***, v. 17, n. 03, p. 275-280, 03 fev. 1997. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s003000050132>. Acceso em: 01 ago. 2025.

FIGUEREDO, H. M. *et al.. Diversity and ecology of cultivable fungi isolated from the thermal soil gradients in Deception Island*, *Antarctica*. ***Extremophiles***, v. 24, n. 02, p. 219-225, 15 nov. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00792-019-01146-z>. Acceso em: 01 ago. 2025.

GANZERT, L. *et al.. The impact of different soil parameters on the community structure of dominant bacteria from nine different soils located on Livingston Island, South Shetland Archipelago, Antarctica*. ***FEMS Microbiology Ecology***, v. 76, n. 03, p. 476-491, 18 mar. 2011. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01068.x>. Acceso em: 01 ago. 2025.

GORAL, A. M. *et al.. Crystal structure of a putative isochorismatase hydrolase from Oleispira antarctica*. ***Journal of Structural and Functional Genomics***, v. 13, n. 01, p. 27-36, 14 fev. 2012. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10969-012-9127-5>. Acceso em: 01 ago. 2025.

GRASSO, S. *et al.. Signal peptide efficiency: from high-throughput data to prediction and explanation*. ***ACS Synthetic Biology***, v. 12, n. 02, p. 390-404, 17 jan. 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/acssynbio.2c00328>. Acceso em: 01 ago. 2025.

GUSTAFSSON, U. I.. ***Icebound frontiers of exploitation: Networks for whaling in the Polar regions, 1904-1931***. *Orientadores*: HACQUEBORD, Louwrens (*orientador*); AVANGO, Dag (*coorientador*). 410 *f.*. *Tese* (*Doutorado*) - PPG-ARQ (*Programa de Pós-Graduação em Arqueologia*), RUG (*University of Groningen*), *Groningen*, *Países Baixos*, 2019. Disponible en: <https://research.rug.nl/en/publications/icebound-frontiers-of-exploitation-networks-for-whaling-in-the-po/>. Acceso em: 01 ago. 2025.

HAMID, B. *et al.. Cold-active enzymes and their potential industrial applications: a review*. ***Molecules***, v. 27, n. 18, p. 5885, 10 set. 2022. Disponible en: < https://doi.org/10.3390/molecules27185885 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

HELD, B. W.; BLANCHETTE, R. A.. *Deception Island, Antarctica, harbors a diverse assemblage of wood decay fungi*. ***Fungal Biology***, v. 121, n. 02, p. 145-157, fev. 2017. Disponible en: < https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.11.009 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

HU, Y. *et al.. Contrasting latitudinal diversity and co-occurrence patterns of soil fungi and plants in forest ecosystems*. ***Soil Biology and Biochemistry***, v. 131, p. 100-110, 01 abr.

2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.01.001>. Acceso em: 01 ago. 2025.

HURST, C. J.; *et al.*. ***Manual of environmental microbiology***. *Washington*: *Asm Press*, 2007. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/9781555815882>. Acceso em: 01 ago. 2025.

HYDE, K. D. *et al.. The numbers of fungi: is the descriptive curve flattening?*. ***Fungal Diversity***, v. 103, n. 01, p. 219-271, jul. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00458-2>. Acceso em: 01 ago. 2025.

IANIRI, G.; LANDMANN, S. L.; DAWSON, T. L.. *Malassezia: a commensal, pathogen, and mutualist of human and animal skin*. ***Annual Review of Microbiology***, v. 76, n. 01, p. 757-782, 08 set. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-040820-010114>. Acceso em: 01 ago. 2025.

IARK, D. *et al.. Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from Oudemansiella canarii*. ***Bioresource Technology***, v. 289, p. 121655, out. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121655>. Acceso em: 01 ago. 2025.

IBAÑEZ, J. *et al.. The recent seismo-volcanic activity at Deception Island volcano*. ***Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography***, v. 50, n. 10-11, p. 1611-1629, jun. 2003. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/S0967-0645(03)00082-1>. Acceso em: 01 ago. 2025.

JARA, D. *et al.. Antibiotic resistance in bacterial isolates from freshwater samples in Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica*. ***Scientific Reports***, v. 10, n. 01, 21 fev. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60035-0>. Acceso em: 01 ago. 2025.

JUNG, P. *et al.. Uncovering biological soil crusts: carbon content and structure of intact Arctic, Antarctic and alpine biological soil crusts.* ***Biogeosciences***, v. 15, n. 04, p. 1149-1160, 23 fev. 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.5194/bg-15-1149-2018>. Acceso em: 01 ago. 2025.

JURELEVICIUS, D. *et al.. Metagenomic analysis of microbial communities across a transect from low to highly hydrocarbon-contaminated soils in King George Island, Maritime Antarctica*. ***Geobiology***, v. 20, n. 01, p. 98-111, 20 set. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/gbi.12472>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KATZ, M.; HOVER, B. M.; BRADY, S. F.. *Culture-independent discovery of natural products from soil metagenomes.* ***Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology***, v. 43, n. 02-03, p. 129-141, 19 nov. 2015. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1706-6>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KIM, K. S. *et al.. The rut pathway for pyrimidine degradation: novel chemistry and toxicity problems*. ***Journal of Bacteriology***, v. 192, n. 16, p. 4089-4102, 01 ago. 2010. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/jb.00201-10>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KIMURA, M.. *A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences*. ***Journal of Molecular Evolution***, v. 16, n. 02, p. 111-120, jun. 1980. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/bf01731581>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KIRKLAND, T. N. *et al.. Coccidioides species: a review of basic research*: *2022*. ***Journal of Fungi***, v. 08, n. 08, p. 859-859, 16 ago. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof8080859>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KLOOS, K.; MUNCH, J. C.; SCHLOTER, M.. *A new method for the detection of alkane-monooxygenase homologous genes* (*alkB*) *in soils based on PCR-hybridization*. ***Journal of Microbiological Methods***, v. 66, n. 03, p. 486-496, 01 set. 2006. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.01.014>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KODZIUS, R.; GOJOBORI, T.. *Marine metagenomics as a source for bioprospecting*. ***Marine Genomics***, v. 24, p. 21-30, dez. 2015. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.margen.2015.07.001>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KOO, H. *et al.. Distribution of cold adaptation proteins in microbial mats in Lake Joyce, Antarctica*: *analysis of metagenomic data by using two bioinformatics tools*. ***Journal of Microbiological Methods***, v. 120, p. 23-28, jan. 2016. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.11.008>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KORASICK, D. A.; JEZ, J. M.. *Protein domains: structure, function and methods*. ***Encyclopedia of Cell Biology***, p. 91-97, 2016. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394447-4.10011-2>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KRISHNAN, A. *et al.. Temperature and pH profiling of extracellular amylase from Antarctic and Arctic soil microfungi*. ***Fermentation***, v. 08, n. 11, p. 601, 03 nov. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/fermentation8110601>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KUBE, M. *et al.. Genome sequence and functional genomic analysis of the oil-degrading bacterium Oleispira antarctica*. ***Nature Communications***, v. 04, n. 01, 23 jul. 2013. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ncomms3156>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KUMAR, D. *et al.. Screening, isolation and production of lipase/esterase producing Bacillus sp. strain DVL2 and its potential evaluation in esterification and resolution reactions*. ***Scholars Research Library Archives of Applied Science Research***, v. 2012, n. 04, p. 1763-1770, 2012. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Screening%2C-isolation-and-production-of-lipase-sp.-Kumar-Kumar/d5ad6dfac9c4eeeffdf41866efacef5660fbf96a>. Acceso em: 01 ago. 2025.

KUMARI, M. *et al.. Biotechnological potential of psychrophilic microorganisms as the source of cold-active enzymes in food processing applications*. ***3 Biotech***, v. 11, n. 11, 30 out. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-03008-y>. Acceso em: 01 ago. 2025.

LAGO, D. A. *et al.. Copper distribution in surface and subsurface soil horizons*. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 21, n. 18, p. 10997-11008, 03 jun. 2014. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3084-4>. Acceso em: 01 ago. 2025.

LEE, J. W. *et al.. Emergence of Vanrija humicola as a pathogen of urinary tract infections in Korea*. ***Annals of Clinical Microbiology***, v. 27, n. 01, 20 mar. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.5145/ACM.2024.27.1.5>. Acceso em: 01 ago. 2025.

LEOTTA, G. A.; REINOSO, E. H.. *Thelebolus microsporus*. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 41, n. 03, p. 197, 03 set. 2009. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19831319/>. Acceso em: 01 ago. 2025.

LINDAHL, B. D. *et al.. Fungal community analysis by high-throughput sequencing of amplified markers: a user's guide*. ***New Phytologist***, v. 199, n. 01, p. 288-299, 28 mar. 2013. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/nph.12243>. Acceso em: 01 ago. 2025.

LIU, F. *et al.. Saccharomycetaceae: delineation of fungal genera based on phylogenomic analyses, genomic relatedness indices and genomics-based synapomorphies*. ***Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi***, v. 52, n. 01, p. 01-21, 07 abr. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.3767/persoonia.2024.52.01>. Acceso em: 01 ago. 2025.

LOMSADZE, A.. *et al.. Gene identification in novel eukaryotic genomes by self-training algorithm*. ***Nucleic Acids Research***, v. 33, n. 20, p. 6494-6506, 27 nov. 2005. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/gki937>. Acceso em: 01 ago. 2025.

LU, J. *et al.. Bracken*: *estimating species abundance in metagenomics data*. ***PeerJ Computer Science***, v. 03, p. e104, 02 jan. 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.7717/peerj-cs.104>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SOUZA, L. M. D. de *et al.. Communities of culturable freshwater fungi present in Antarctic lakes and detection of their low-temperature-active enzymes*. ***Brazilian Journal of Microbiology***, v. 54, n. 03, p. 1923-1933, 24 out. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00834-x>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MANGIAGALLI, M.; LOTTI, M.. *Cold-active β-Galactosidases: insight into cold adaptation mechanisms and biotechnological exploitation*. ***Marine Drugs***, v. 19, n. 01, p. 43, 19 jan. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/md19010043>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MANNERVIK, M.. *Target genes of homeodomain proteins*. ***BioEssays***, v. 21, n. 04, p. 267-270, 28 abr. 1999. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/(sici)1521-1878(199904)21:4%3C267::aid-bies1%3E3.0.co;2-c>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MARCHESI, J. R.; RAVEL, J.. *The vocabulary of microbiome research: a proposal*. ***Microbiome***, v. 03, n. 01, 30 jul. 2015. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0094-5>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MARSHALL, W. A.. *Biological particles over Antarctica*. ***Nature***, v. 383, n. 6602, p. 680-680, 24 out. 1996. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/383680a0>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MARTÍNEZ, M. B. *et al.. Potential application of fungal biosorption and/or bioaccumulation for the bioremediation of wastewater contamination: a review*. ***Journal of Environmental Biology***, v. 44, n. 02, p. 135-145, 13 mar. 2023. Disponible en: <https://orcid.org/0000-0002-6675-4687>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MARTORELL, M. M. *et al.. Biodiversity and enzymes bioprospection of Antarctic filamentous fungi*. ***Antarctic Science***, v. 31, n. 01, p. 03-12, 19 dez. 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0954102018000421>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MARTORELL, M. M. *et al.. Bioremediation abilities of Antarctic fungi*. *In*: TIQUIA-ARASHIRO, S. M.; GRUBE, M. (eds.). ***Fungi in extreme environments****: ecological role and biotechnological significance*. *Berlin*: *Springer Nature*, 2019. p. 517-534. Disponible en: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-19030-9_26>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MEDVEDEV, K. E. *et al.. Functional analysis of Rossmann-like domains reveals convergent evolution of topology and reaction pathways*. ***PLOS Computational Biology***, v. 15, n. 12, p. e1007569, 23 dez. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007569>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MEDVEDEV, K. E. *et al.. A fifth of the protein world: Rossmann-like proteins as an evolutionarily successful structural unit*. ***Journal of Molecular Biology***, v. 433, n. 04, p. 166788-166788, 01 fev. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.166788>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MELO, I. S. *et al.. Isolation and biological activities of an endophytic Mortierella alpina strain from the Antarctic moss Schistidium antarctici*. ***Extremophiles***, v. 18, n. 01, p. 15-23, 15 out. 2013. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0588-7>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MENZEL, P.; NG, K. L.; KROGH, A.. *Fast and sensitive taxonomic classification for metagenomics with Kaiju*. ***Nature Communications***, v. 07, n. 01, 13 abr. 2016. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ncomms11257>. Acceso em: 01 ago. 2025.

METZKER, M. L.. *Sequencing technologies*: *the next generation*. ***Nature Reviews Genetics***, v. 11, n. 01, p. 31-46, 08 dez. 2010. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrg2626>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MEYER, F. *et al.. The metagenomics RAST server: a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes*. ***BMC Bioinformatics***, v. 09, n. 01, 19 set. 2008. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-386>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MUÑOZ, P. A. *et al.. Thermophilic bacteria present in a sample from Fumarole Bay, Deception Island*. ***Antarctic Science***, v. 23, n. 06, p. 549-555, 27 jun. 2011. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0954102011000393>. Acceso em: 01 ago. 2025.

MUÑOZ, P. A. *et al.. Structure and application of antifreeze proteins from Antarctic bacteria*. ***Microbial Cell Factories***, v. 16, n. 01, 07 ago. 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0737-2>. Acceso em: 01 ago. 2025.

NELSON, D. L.; COX, M. M.. ***Lehninger principles of biochemistry***. 08. ed.. *New York, NY, USA*: W H Freeman, 2021. Disponible en: <https://www.amazon.com/Lehninger-Principles-Biochemistry-David-Nelson/dp/1319228003>. Acceso em: 01 ago. 2025.

NGUYEN, T. *et al.. Molecular and morphological confirmation of three undescribed species of Mortierella from Korea*. ***Mycobiology***, v. 47, n. 01, p. 31-39, 02 jan. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1551854>. Acceso em: 01 ago. 2025.

NIKULIN, J. *et al.. Brewing characteristics of the maltotriose-positive yeast Zygotorulaspora florentina isolated from oak*. ***Beverages***, v. 06, n. 04, p. 58, 24 set. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/beverages6040058>. Acceso em: 01 ago. 2025.

NKUNA, R.; MATAMBO, T.. *Determining the metabolic processes of metal-tolerant fungi isolated from mine tailings for bioleaching*. ***Minerals***, v. 14, n. 03, p. 235-235, 26 fev. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/min14030235>. Acceso em: 01 ago. 2025.

OGAKI, M. B. *et al.. Diversity, ecology, and bioprospecting of culturable fungi in lakes impacted by anthropogenic activities in maritime Antarctica*. ***Extremophiles***, v. 24, n. 04, p. 637-655, 13 jun. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00792-020-01183-z>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ONDRÁČKOVÁ, E.; SEIDENGLANZ, M.; ŠAFÁŘ, J.. *Effect of seventeen pesticides on mycelial growth of Akanthomyces, Beauveria, Cordyceps and Purpureocillium strains*. ***Czech Mycology***, v. 71, n. 02, p. 123-135, 01 nov. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.33585/cmy.71201>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ORTIZ, M. *et al.. Microbial nitrogen cycling in Antarctic soils*. ***Microorganisms***, v. 08, n. 09, p. 1442, 21 set. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091442>. Acceso em: 01 ago. 2025.

OTTONI, J. R. *et al.. Characterization of amylase produced by cold-adapted bacteria from Antarctic samples*. ***Biocatalysis and Agricultural Biotechnology***, v. 23, p. 101452, jan. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101452>. Acceso em: 01 ago. 2025.

PASSARINI, M. R. *et al.. Biotechnological potential in agriculture of soil Antarctic microorganisms revealed by omics approach*. ***World Journal of Microbiology and Biotechnology***, v. 40, n. 11, 12 out. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04114-8>. Acceso em: 01 ago. 2025.

PASSARINI, M. R. Z. *et al.. Marine-derived filamentous fungi and their potential application for polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation*. ***Marine Pollution Bulletin***, v. 62, n. 02, p. 364-370, fev. 2011. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.10.003>. Acceso em: 01 ago. 2025.

PASSARINI, M. R. Z. *et al.. Undecane production by cold-adapted bacteria from Antarctica*. ***Extremophiles***, v. 24, n. 06, p. 863-873, 17 set. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00792-020-01200-1>. Acceso em: 01 ago. 2025.

PEARCE, D. A. *et al.. Metagenomic analysis of a southern maritime Antarctic soil*. ***Frontiers in Microbiology***, v. 03, 2012. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00403>. Acceso em: 01 ago. 2025.

PENSINGER, D. A.; SCHAENZER, A. J.; SAUER, J. D.. *Do shoot the messenger: PASTA Kinases as virulence determinants and antibiotic targets*. ***Trends in Microbiology***, v. 26, n. 01, p. 56-69, jan. 2018. Disponible en: < https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.06.010 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

PÉREZ-FERNÁNDEZ, B. *et al.. Ocurrence and sources of pollutants in the soils of penguin colonies in the south Shetland Islands, north-west coast of the Antarctic peninsula*. ***Geoderma***, *v. 461, n. 117482*, sep. 2025. Disponible en: < https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2025.117482 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

PESCIAROLI, C. *et al.. Temperature preferences of bacteria isolated from seawater collected in Kandalaksha Bay, White Sea, Russia*. ***Polar Biology***, v. 35, n. 03, p. 435-445, 10 set. 2011. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00300-011-1091-1>. Acceso em: 01 ago. 2025.

PIETRZAK, U.; MCPHAIL, D. C.. *Copper accumulation, distribution and fractionation in vineyard soils of Victoria, Australia*. ***Geoderma***, v. 122, n. 02-04, p. 151-166, out. 2004.

Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.005>. Acceso em: 01 ago. 2025.

PRAKASH, O. *et al.. Fungi from extreme environments: a potential source of laccases group of extremozymes*. *In*: TIQUIA-ARASHIRO, S. M.; GRUBE, M. (eds.). ***Fungi in extreme environments**: ecological role and biotechnological significance*. *Berlin*: *Springer Nature*, 2019, p. 441-462. Disponible en: < https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-19030-9_22 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

PRATER, I. *et al.. How vegetation patches drive soil development and organic matter formation on polar islands*. ***Geoderma Regional***, v. 27, p. e00429, 09 ago. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2021.e00429>. Acceso em: 01 ago. 2025.

PROM, L. K. *et al.. Genetic and pathogenic variability among isolates of Sporisorium reilianum causing sorghum head smut*. ***Journal of Fungi***, v. 10, n. 01, p. 62-62, 12 jan. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof10010062>. Acceso em: 01 ago. 2025.

QU, J. *et al.. Macrogenomic analysis reveals soil microbial diversity in different regions of the Antarctic peninsula*. ***Microorganisms***, v. 12, n. 12, p. 2444, 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12122444>. Acceso em: 01 ago. 2025.

QUINCE, C. *et al.. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis*. ***Nature Biotechnology***, v. 35, n. 09, p. 833-844, set. 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>. Acceso em: 01 ago. 2025.

R CORE TEAM. ***R**: a language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: *R Core Team*, 2024. Disponible en: <https://www.r-project.org/>. Acceso em: 28 out. 2024.

REZNIK, B.. ***What remains at Whalers Bay***. 2015. Disponible en: < https://www.aisleseatplease.com/blog/2015/6/26/what-remains-at-whalers-bay?rq=whalers%20bay >. Acceso em: 27 set. 2025.

RIOS, M. G. *et al.. Modeling of microbial kinetics and mass transfer in bioreactors simulating the natural attenuation of arsenic and iron in acid mine drainage*. ***Journal of Hazardous Materials***, v. 405, p. 124133-124133, 01 mar. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124133>. Acceso em: 01 ago. 2025.

RIZZO, C. *et al.. Cultivable bacterial communities in brines from perennially ice-covered and pristine Antarctic lakes*: *ecological and biotechnological implications*. ***Microorganisms***, v. 08, n. 06, p. 819, 29 maio 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060819>. Acceso em: 01 ago. 2025.

RODRÍGUEZ, R. *et al.. Taxonomic and predicted functional profiling of coexisting rhizosphere microbiomes of Deschampsia antarctica and Colobanthus quitensis along an altitudinal transect in Admiralty Bay, maritime Antarctica*. ***Journal of Soil Science and Plant***

Nutrition, v. 25, p. 1767-1779, 20 jan. 2025. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s42729-025-02236-y>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ROSA, S. de la *et al.. Sequential breakdown of the Cf-9 leaf mould resistance locus in tomato by Fulvia fulva*. ***New Phytologist***, v. 243, n. 04, p. 1522-1538, 24 jun. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/nph.19925>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ROUSK, K.; SORENSEN, P. L.; MICHELSEN, A.. *Nitrogen fixation in the High Arctic: a source of "new" nitrogen?*. ***Biogeochemistry***, v. 136, n. 02, p. 213-222, 23 out. 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10533-017-0393-y>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SAITOU, N.; NEI, M.. *The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees*. ***Molecular Biology and Evolution***, v. 04, n. 04, p. 406-425, jul. 1987. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SÁNCHEZ-CORZO, L. D. *et al.. Lignocellulolytic enzyme production from wood rot fungi collected in Chiapas, Mexico, and their growth on lignocellulosic material*. ***Journal of Fungi***, v. 07, n. 06, p. 450, 05 jun. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof7060450>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SANTOS, J. A. dos; MEYER, E.; SETTE, L. D.. *Fungal community in Antarctic soil along the retreating Collins Glacier (Fildes Peninsula, King George Island)*. ***Microorganisms***, v. 08, n. 08, p. 1145, 29 jul. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081145>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SANTOS, R. C. B. *et al.. Production of laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase by Brazilian marine-derived fungi*. ***Enzyme and Microbial Technology***, v. 46, n. 01, p. 32-37, jan. 2010. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.07.014>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SCHOENHOFEN, I. C. *et al.. Elucidation of the CMP-pseudaminic acid pathway in Helicobacter pylori: synthesis from UDP-N-acetylglucosamine by a single enzymatic reaction*. ***Glycobiology***, v. 16, n. 09, p. 8C14C, 03 jun. 2006. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/glycob/cwl010>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SCHRÖDER, C.; BURKHARDT, C.; ANTRANIKIAN, G.. *What we learn from extremophiles*. ***ChemTexts***, v. 06, n. 01, 17 fev. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40828-020-0103-6>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SHAKYA, M. *et al.. Standardized phylogenetic and molecular evolutionary analysis applied to species across the microbial tree of life*. ***Scientific Reports***, v. 10, n. 01, 03 fev. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58356-1>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SHEAU, T. Y. *et al.. A Talaromyces fungal species with strong antimicrobial activity from Deception Island, Antarctica.* ***Sains Malaysiana***, v. 52, n. 01, p. 83-93, 31 jan. 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.17576/jsm-2023-5201-07>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SHUKLA, S.; PADHIAR, A.. *Lignin peroxidase: optimization of media for higher productivity by single factor optimization method*. ***Research Journal of Biotechnology***, v. 16, n. 07, p. 130-135, 25 jun. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.25303/167rjbt13021>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SILVA, K. M. da *et al.. Extracellular hydrolytic enzymes produced by yeasts from Antarctic lichens*. ***Anais da Academia Brasileira de Ciências***, v. 94, n. suppl 01, 01 jan. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220210540>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SILVA, M. da *et al.. Cnidarian-derived filamentous fungi from Brazil: isolation, characterisation and RbBr decolourisation screening.* ***Environmental Technology***, v. 29, n. 12, p. 1331-1339, 01 dez. 2008. Disponible en: < https://doi.org/10.1080/09593330802379466 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

SILVA, M. K. da *et al.. Diversity and enzymatic, biosurfactant and phytotoxic activities of culturable Ascomycota fungi present in marine sediments obtained near the South Shetland Islands, maritime Antarctica*. ***Extremophiles***, v. 28, n. 02, 17 mar. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00792-024-01336-4>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SILVA, T. R. *et al.. Bacteria from Antarctic environments: diversity and detection of antimicrobial, antiproliferative, and antiparasitic activities*. ***Polar Biology***, v. 41, n. 07, p. 1505-1519, 15 mar. 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2300-y>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SIMONETTI, F. L. *et al.. Resistance to adverse conditions and characterization of Cladosporium species from marine and terrestrial Antarctic samples*. ***Anais da Academia Brasileira de Ciências***, v. 96, n. suppl 02, 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0001-3765202420230598>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SINGH, R. *et al.. Ascochyta rabiei*: *a threat to global chickpea production*. ***Molecular Plant Pathology***, v. 23, n. 09, p. 1241-1261, set. 2022. Disponible en: < https://doi.org/10.1111/mpp.13235 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

SINGH, S. M. *et al.. Pigment, fatty acid and extracellular enzyme analysis of a fungal strainThelebolus microsporusfrom Larsemann Hills, Antarctica*. ***Polar Record***, v. 50, n. 01, p. 31-36, 07 jan. 2013. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0032247412000563>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SIPICZKI, M.. *Mycosarcoma aegyptiacum sp. nov., an antagonistic polymorphic basidiomycetous yeast related to smut fungi*. ***International Journal of Systematic and***

Evolutionary Microbiology, v. 70, n. 02, p. 1086-1092, 01 fev. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003879>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SIPOS, P. *et al.. Effect of soil composition on adsorption of lead as reflected by a study on a natural forest soil profile*. ***Geoderma***, v. 124, n. 03-04, p. 363-374, fev. 2005. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.05.011>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SONI, V. K.; SATEESH, M.; PESHIN, S. K.. ***Climatology of Maitri, Antarctica***. *New Delhi*, *India*: *Ministry of Earth Sciences, India Meteorological Department, Polar Meterological Research Division*, 2014. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/319536645_Climatology_of_Maitri_Antarctica>. Acceso em: 27 set. 2025.

SANTOS, G. S. dos. ***Phaeurus antarticus e seus fungos endofíticos***: *diversidade quimica de uma farmácia oculta sob océano Antártico*. *Orientadores*: DEBONSI, Hosana Maria (*orientador*); EDRADA-EBEL, Ru Angelie (*coorientador*). 330 *f*.. *Tese* (*Doutorado*) - PPG-CF (*Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas*), USP (*Universidade de São Paulo*), *Ribeirão Preto*, 2022. Disponible en: < https://doi.org/10.11606/T.60.2022.tde-20072023-113231 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

STCHIGEL, A. M. *et al.. Antarctomyces psychrotrophicus gen. et sp. nov., a new ascomycete from Antarctica*. ***Mycological Research***, v. 105, n. 03, p. 377-382, 01 mar. 2001. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0953756201003379>. Acceso em: 01 ago. 2025.

STORFIE, E. R. M.; SAVILLE, B. J.. *Fungal Pathogen Emergence: investigations with an Ustilago maydis × Sporisorium reilianum Hybrid*. ***Journal of Fungi***, v. 07, n. 08, p. 672, 20 ago. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof7080672>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SUÁREZ C., L. Y.; PEÑARANDA F., F. A.. *Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico*. ***Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial***, v. 20, n. 01, p. 194-206, 15 dez. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.18684/bsaa.v20.n1.2022.1914>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SUTILLI, M. *et al.. Depositional input of hydrocarbons recorded in sedimentary cores from Deception and Penguin Islands* (*South Shetland Archipelago, Antarctica*). ***Environmental Pollution***, v. 253, p. 981-991, 13 jul. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.057>. Acceso em: 01 ago. 2025.

SZOPIŃSKA, M. *et al.. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and other organic pollutants in freshwaters on the western shore of Admiralty Bay (King George Island, Maritime Antarctica)*. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 26, n. 18, p. 18143-18161, 29 abr. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05045-w>. Acceso em: 01 ago. 2025.

TAPIA, J. *et al.. Human activity in Antarctica*: *effects on Metallic Trace Elements* (*MTEs*) *in plants and soils*. ***Plants***, v. 10, n. 12, p. 2593, 26 nov. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants10122593>. Acceso em: 01 ago. 2025.

TEIXEIRA, ELISA. A. A. *et al.. Fungal diversity in Antarctic lignocellulosic substrates and their production of enzymes and lipids with potential industrial applications*. ***Blue Biotechnology***, v. 02, n. 01, 09 jul. 2025. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s44315-025-00035-9>. Acceso em: 01 ago. 2025.

TELAGATHOTI, A. *et al.. Mortierellaceae from subalpine and alpine habitats: new species of Entomortierella, Linnemannia, Mortierella, Podila and Tyroliella gen. nov*. ***Studies in Mycology***, v. 103, p. 25-58, 2022. Disponible en: < https://doi.org/10.3114/sim.2022.103.02 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

TSUJI, M. *et al.. Comparative analysis of milk fat decomposition activity by Mrakia spp. isolated from Skarvsnes ice-free area, East Antarctica*. ***Cryobiology***, v. 70, n. 03, p. 293-296, jun. 2015. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.04.002>. Acceso em: 01 ago. 2025.

TSUJI, M.; HOSHINO, T. (ed.). ***Fungi in polar regions***. *Boca Raton*, *FL*, *USA*: *CRC Press*, 2019. Disponible en: < https://www.routledge.com/Fungi-in-Polar-Regions/Tsuji-Hoshino/p/book/9780367779979 >. Acceso em: 01 ago. 2025.

VARRELLA, S. *et al.. Diversity, ecological role and biotechnological potential of Antarctic marine fungi*. ***Journal of Fungi***, v. 07, n. 05, p. 391, 17 maio 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof7050391>. Acceso em: 01 ago. 2025.

VEGA-GARCÍA, S. *et al.. Molecular and isotopic biogeochemistry on recently-formed soils on King George Island (Maritime Antarctica) after glacier retreat upon warming climate*. ***The Science of the Total Environment***, v. 755, p. 142662-142662, 02 out. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142662>. Acceso em: 01 ago. 2025.

VESTER, J. K.; GLARING, M. A.; STOUGAARD, P.. *Improved cultivation and metagenomics as new tools for bioprospecting in cold environments*. ***Extremophiles***, v. 19, n. 01, p. 17-29, 16 nov. 2014. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0704-3>. Acceso em: 01 ago. 2025.

WANG, D. *et al.. Fungal biofilm formation and its regulatory mechanism*. ***Heliyon***, v. 10, n. 12, p. e32766-e32766, 01 jun. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32766>. Acceso em: 01 ago. 2025.

WASCHULIN, V. *et al.. Biosynthetic potential of uncultured Antarctic soil bacteria revealed through long-read metagenomic sequencing*. ***The ISME Journal***, v. 16, n. 01, p. 101-111, 12

jul. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01052-3>. Acceso em: 01 ago. 2025.

WENTZEL, L. C. *et al.*. *Fungi from Admiralty Bay (King George Island, Antarctica) soils and marine sediments*. ***Microbial Ecology***, v. 77, n. 01, p. 12-24, 19 jun. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1217-x>. Acceso em: 01 ago. 2025.

WHITTAKER, R. H.. *Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California*. ***Ecological Monographs***, v. 30, n. 03, p. 279-338, jul. 1960. Disponible en: <https://doi.org/10.2307/1943563>. Acceso em: 01 ago. 2025.

WOOD, D. E.; SALZBERG, S. L.. *Kraken*: *ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments*. ***Genome Biology***, v. 15, n. 03, p. R46, 03 mar. 2014. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/gb-2014-15-3-r46>. Acceso em: 01 ago. 2025.

WU, B. *et al.*. *Microbial sulfur metabolism and environmental implications*. ***Science of the Total Environment***, v. 778, p. 146085, 15 jul. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146085>. Acceso em: 01 ago. 2025.

YANG, J. *et al.*. *Modifying the chain-length selectivity of the lipase from Burkholderia cepacia KWI-56 through in vitro combinatorial mutagenesis in the substrate-binding site*. ***Protein Engineering, Design and Selection***, v. 15, n. 02, p. 147-152, fev. 2002. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/protein/15.2.147>. Acceso em: 01 ago. 2025.

YEATS, C.; FINN, R. D.; BATEMAN, A.. *The PASTA domain*: *a β-lactam-binding domain*. ***Trends in Biochemical Sciences***, v. 27, n. 09, p. 438-440, 01 set. 2002. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/s0968-0004(02)02164-3>. Acceso em: 01 ago. 2025.

YERGEAU, E.; KOWALCHUK, G. A.. *Responses of Antarctic soil microbial communities and associated functions to temperature and freeze-thaw cycle frequency*. ***Environmental Microbiology***, v. 10, n. 09, p. 2223-2235, set. 2008. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01644.x>. Acceso em: 01 ago. 2025.

YOSHINAGA, T. T. *et al.*. *Fungi from Antarctic marine sediment: characterization and assessment for textile dye decolorization and detoxification*. ***Brazilian Journal of Microbiology***, v. 55, p. 3437-3448, 11 set. 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01485-w>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ZAMUDIO, J. D. C. *et al.*. Aplicación de secuenciación masiva para el estudio y exploración de diversidad microbiana y su aprovechamiento biotecnológico. **Agroproductividad**, v. 09, n. 02, p. 70-83, fev. 2016. Disponible en: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/723>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ZHANG, T. *et al.. Shotgun metagenomics reveals a diverse mycobiome in the seawater from a High Arctic fjord (Kongsfjorden, Svalbard*). ***Environmental Research***, v. 233, p. 116437, set. 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116437>. Acceso em: 01 ago. 2025.

ZUCCONI, L. *et al.. Extracellular enzymes and bioactive compounds from Antarctic terrestrial fungi for bioprospecting*. ***International Journal of Environmental Research and Public Health***, v. 17, n. 18, p. 6459, 04 set. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijerph17186459>. Acceso em: 01 ago. 2025.

APÉNDICES

Apéndice A – Matriz funcional de los hongos identificados para el análisis de redes de interacción

Se evaluó la diversidad funcional del micobioma identificado en los perfiles taxonómicos de las comunidades fúngicas. Para ello, se utilizó la plataforma FUNGuild, una base de datos en línea que proporciona información sobre el modo trófico y el guild funcional de los hongos. Adicionalmente, se realizó una búsqueda de proteínas en el NCBI para verificar la presencia de registros de producción de enzimas clave: lipasa, amilasa, proteasa, lignina peroxidasa y lacasa.

Con esta información se construyó una matriz funcional que sirvió como base para el análisis de redes y la elaboración del correspondiente gráfico de interacción funcional (Tabla 10).

Tabla 1. Matriz funcional de los hongos identificados para el análisis de redes de interacción

Genus	lipase	amylase	protease	lignin peroxidase	laccase	growth_form_fg	guild_fg	trophic_mode_fg
Thermothielavioides	0	0	0	0	0	Microfungus	Undefined Saprotroph	Saprotroph
Thermothelomyces	1	0	1	0	1	Microfungus	Undefined Saprotroph	Saprotroph
Pyricularia	1	0	1	0	1	Microfungus	Plant Pathogen	Pathotroph
Purpureocillium	1	0	1	0	1	Microfungus	Animal Parasite-Fungal Parasite-Undefined Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph
Drechmeria	1	0	1	0	0	Microfungus	|Animal Parasite|-Endophyte-Undefined Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph-Symbiotroph
Ustilaginoidea	0	0	0	0	1	Microfungus	Clavicipitaceous Endophyte-Plant Pathogen	Pathotroph-Symbiotroph
Metarhizium	1	1	1	0	1	Microfungus	|Animal Parasite|-Animal Pathogen-Undefined Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph
Akanthomyces	1	1	1	0	1	Microfungus	|Animal Parasite|-Animal Pathogen-Undefined Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph
Fulvia	1	0	1	0	1	Microfungus	|Plant Pathogen|	Pathotroph
Ascochyta	1	1	0	0	1	Microfungus	Lichen Parasite-|Plant Pathogen|	Pathotroph
Coccidioides	1	0	1	0	1	Dimorphic-Facultative Yeast	Animal Parasite-Animal Pathogen-|Undefined Saprotroph|Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph
Eremothecium	1	0	0	0	0	Dimorphic	|Plant Pathogen|-Plant Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph
Lachancea	1	0	0	0	0	Yeast	Animal Parasite-Animal Pathogen-|Undefined Saprotroph|	Pathotroph-Saprotroph
Henningerozyma	0	0	0	0	0	Yeast		
Yarrowia	1	0	1	0	1	Yeast	|Undefined Saprotroph|	Saprotroph
Schizosaccharomyces	1	0	0	0	0	Yeast	|Undefined Saprotroph|	Saprotroph
Cutaneotrichosporon	1	0	1	0	0	Yeast	|Animal Parasite|-Animal Pathogen-Undefined Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph
Kwoniella	1	0	0	0	1	Dimorphic	|Undefined Saprotroph|	Saprotroph
Sporisorium	1	0	1	0	1	Smut	|Plant Pathogen|	Pathotroph
Puccinia	1	1	0	0	1	Rust	|Plant Pathogen|	Pathotroph
Pochonia	1	0	1	0	1	Microfungus	|Animal Parasite|-Animal Pathogen-Undefined Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph
Trichoderma	1	1	1	0	1	Microfungus	Animal Pathogen-Endophyte-Epiphyte-|Fungal Parasite|-Plant Pathogen-Wood Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph-Symbiotroph
Fusarium	1	0	1	0	1	Microfungus	Animal Pathogen-Endophyte-Lichen Parasite-|	Pathotroph-Saprotroph-Symbio-

							Plant Pathogen|-Plant Saprotroph-Undefined Saprotroph-Wood Saprotroph	troph
Colletotrichum	1	1	1	0	1	Microfungus	Endophyte-|Plant Pathogen|-Plant Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph-Symbio-troph
Neurospora	1	0	0	0	1	Microfungus	|Undefined Saprotroph|	Saprotroph
Aspergillus	1	1	1	0	1	Microfungus	Animal Pathogen-Endophyte-Plant Saprotroph-|Undefined Saprotroph|-Wood Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph-Symbio-troph
Talaromyces	1	1	1	0	1	Microfungus	Animal Parasite-|Undefined Saprotroph|	Pathotroph-Saprotroph
Zymoseptoria	1	1	1	0	0	Microfungus	|Plant Pathogen|-Plant Saprotroph	Pathotroph-Saprotroph
Zygotorulaspora	1	0	1	0	0	Yeast	|Undefined Saprotroph|	Saprotroph
Malassezia	1	0	1	0	0	Yeast	Animal Pathogen-|Undefined Saprotroph|	Pathotroph-Saprotroph
Mycosarcoma	1	0	0	0	0	Smut	Endophyte-Epiphyte-|Plant Pathogen|	Pathotroph-Symbiotroph
Vanrija	1	0	1	0	0	Yeast	|Wood Saprotroph|	Saprotroph

Nota: en las bases de datos NCBI y UniProt no se encontraron registros asociados a la producción de lignina peroxidasa para los géneros identificados en este estudio.
Fuente: autoría propia.