



Universidad del Azuay

ESCUELA DE POSGRADOS

**EVALUACIÓN DE LA DEGRADACIÓN DE PLÁSTICO POR CEPAS DE HONGOS COMO
ALTERNATIVA BIOTECNOLÓGICA DE BIORREMEDIACIÓN**

Trabajo previo a la obtención del título de:

**MAGÍSTER EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES MENCIÓN EN ECOLOGÍA Y
BIODIVERSIDAD**

Nombre del Autor:

Pedro Josué Guerra Astudillo

Nombre del Director:

Rodrigo Sebastián Caroca Cáceres

Cuenca – Ecuador

2026

Dedicatoria

A mi padre, por su ayuda constante en cada uno de mis proyectos y por enseñarme que incluso en los momentos más difíciles, la calma y la armonía siempre son el mejor camino para encontrar soluciones. Gracias por ser ejemplo de serenidad, paciencia y fortaleza.

A mi madre, la mujer más fuerte que conozco, gracias por enseñarme que la honestidad, la ética y la pasión por lo que hacemos son valores fundamentales para vivir con propósito. Todo lo que soy también lleva una parte de tus enseñanzas y de tu ejemplo diario.

A mi Tía Carmelita, por todo su apoyo, cariño y por incentivar mis sueños y mis proyectos, incluso cuando parecían lejanos o difíciles. Gracias por confiar siempre en mí.

A mi hermana Gabriela, porque, aunque la distancia impida muchos abrazos, tu presencia siempre se siente cercana en cada consejo en cada conversación y en cada palabra de apoyo. Gracias por acompañarme incluso desde lejos y por recordar siempre quién soy y hacia dónde debo seguir.

A mi hermana Camila, mi pequeña hermana, gracias por toda tu ayuda durante estos años, por escucharme en los momentos buenos y difíciles, y por siempre darme consejos sinceros que me ayudaron a seguir adelante.

A Jorge Fernández de Córdova y José Manuel Falcón, por ser amigos verdaderos, por impulsarme y darme fuerza durante estos dos años de trabajo. Gracias por las conversaciones, el apoyo y por recordarme que incluso las metas más difíciles pueden alcanzarse cuando uno no camina solo.

A mi Lucilita, te fuiste a otro plano apenas dos días antes de comenzar esta meta que hoy estoy finalizando. Solo me queda agradecerte por toda la ayuda, el cariño y la luz que dejaste en mi vida. Cada recuerdo compartido vive en mi corazón y me acompaña en cada paso. De alguna manera siento que esta meta lleva una parte de ti.

Y finalmente a mi hija Joaquina, por llenar mi vida de dulzura, alegría y amor. Todo esfuerzo, sacrificio y trabajo realizado tiene un motivo, y ese motivo eres tú. Gracias por darme fuerza y por enseñarme el verdadero significado de luchar por un futuro mejor.

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todo el equipo del laboratorio, quienes de una u otra manera contribuyeron al desarrollo de este trabajo y al crecimiento profesional y personal que implicó este proceso.

De manera especial, a Diego Montero y Daniela Ortiz por su apoyo constante durante esta investigación. Incluso en los periodos en los que se encontraban fuera del país realizando sus estudios doctorales, siempre estuvieron dispuestos a ayudarme sin importar la hora, compartiendo conocimientos, resolviendo dudas y brindando orientación en momentos claves del proyecto. Su compromiso y calidad humana fueron fundamentales durante estos años.

A Paul Gamboa, por su cooperación y disposición durante el desarrollo de este proyecto, así como por su apoyo en distintas actividades relacionadas con el trabajo experimental.

A Rosita Batallas y al equipo de Instituto Nacional de Biodiversidad, por abrirme las puertas del centro de investigación y permitirme fortalecer mi conocimiento sobre morfología e identificación de hongos, experiencia que enriqueció significativamente esta investigación.

A Sumak Kawsay *In situ* por permitir el acceso a sus espacios y colaborar en la obtención de partes de las muestras utilizadas en este estudio.

Agradezco profundamente a mi director de proyecto, Rodrigo Caroca, por su apoyo constante, paciencia y enseñanza diaria en el laboratorio. Gracias por compartir su conocimiento, por incentivar el pensamiento crítico y por acompañarme durante todo este proceso de formación científica.

Índice

| | |
|---|----|
| Resumen..... | 7 |
| Abstract | 8 |
| 1. Introducción | 9 |
| 2. Metodología | 11 |
| 2.1. Crecimiento del hongo con potencial capacidad de biorremediación de plástico | 11 |
| 2.2. Clasificación taxonómica de las muestras cultivadas..... | 12 |
| 2.3. Análisis filogenético..... | 14 |
| 2.4. Ensayos de degradación de polímeros mediante cepas de hongos..... | 14 |
| 2.4.1. Desinfección de las muestras de polímeros..... | 15 |
| 2.4.2. Preparación de medios de cultivo..... | 16 |
| 2.4.3. Procesamiento de los polímeros | 17 |
| 2.4.4. Análisis de degradación..... | 18 |
| 2.5. Análisis genómico..... | 19 |
| 2.5.1. Preparación de muestras y extracción de ADN para secuenciación genómica | 19 |
| 2.5.2. Secuenciación y ensamblaje del genoma | 19 |
| 2.5.3. Predicción estructural de genes | 20 |
| 2.5.4. Anotación funcional del genoma..... | 20 |
| 2.6. Análisis filogenético de enzimas CAZymes de la clase Auxiliary Activities (AA) | 20 |
| 2.6.1. Identificación y selección de secuencias CAZyme | 21 |
| 2.6.2. Confirmación funcional mediante dominios conservados (InterPro/ InterProScan). 21 | |
| 2.6.3. Clasificación según localización celular | 21 |
| 2.6.4. Alineamiento de secuencias..... | 22 |
| 2.6.5. Reconstrucción filogenética | 22 |
| 3. Resultados | 23 |
| 3.1. Clasificación taxonómica mediante análisis morfológicos y moleculares..... | 23 |
| 3.1.1. Clasificación molecular..... | 23 |
| 3.1.2. Análisis filogenético..... | 24 |

| | |
|---|----|
| 3.1.3. Clasificación morfológica | 27 |
| 3.2. Evaluación de la capacidad de degradación de cuatro polímeros por distintas cepas de <i>Trametes</i> y <i>Cubamyces</i> en ensayos <i>in vitro</i> - primera fase..... | 28 |
| 3.2.1. Desempeño de cepas fúngicas en la degradación de polímeros. | 29 |
| 3.2.2. Análisis espectroscópico (FT-IR) de la degradación de los polímeros en la primera fase. | 30 |
| 3.3. Evaluación de la capacidad de degradación del polímero con mejor capacidad degradativa en ensayos <i>in vitro</i> - segunda fase | 32 |
| 3.3.1. Selección del polímero, cepa y medio experimental | 32 |
| 3.3.2. Desempeño de <i>Cubamyces menziesii</i> (TV2) en la degradación relativa de polímeros mediante pérdida de peso. | 33 |
| 3.4. Análisis espectroscópico (FT-IR) de la degradación de los polímeros. | 34 |
| 3.5. Secuenciación y análisis genómico de la cepa de <i>Cubamyces menziesii</i> con mejor desempeño en la degradación de los polímeros. | 36 |
| 3.5.2. Análisis filogenético de enzimas AA..... | 39 |
| 4. Discusion..... | 41 |
| 5. Conclusiones | 45 |
| 6. Recomendaciones..... | 45 |
| 7. Referencias..... | 46 |

Índice de figuras, tablas y anexos

| | |
|---|----|
| Figura 1. Mapa del área de estudio del Ecuador..... | 12 |
| Figura 2. Proceso de esterilización superficial de matrices poliméricas mediante radiación (UV) | 15 |
| Figura 3. Vista del montaje de incubación para la interacción entre cepas de hongos y polímeros. | 16 |
| Figura 4. Árbol Filogenético de los géneros <i>Trametes</i> y <i>Cubamyces</i> | 25 |
| Figura 5. Morfología de <i>Cubamyces menziesii</i> | 28 |
| Figura 6. Evidencia fotográfica de la colonización micelial de cepas de hongos sobre polímeros evaluados..... | 29 |
| Figura 7. Desempeño comparativo de la pérdida de peso de cepas fúngicas..... | 30 |

| | |
|--|----|
| Figura 8. Espectro FT-IR diferencial de polipropileno (tratado – testigo) en el rango de 4000 a 800 cm ⁻¹ | 31 |
| Figura 9. Análisis experimental del promedio espectral del polímero polipropileno en contacto con el hongo <i>Cubamyces menziesii</i> (TV2) (Tratado) vs polímero sin contacto al hongo (Testigo). | 32 |
| Figura 10. Degradación relativa del polipropileno (PP) por la cepa <i>Cubamyces menziesii</i> (TV2) | 34 |
| Figura 11. Espectros FT-IR promedio del polipropileno incubado con <i>Cubamyces menziesii</i> (TV2)..... | 35 |
| Figura 12. Espectros FT-IR diferenciales por condición (<i>Cubamyces menziesii</i> - testigo). | 36 |
| Figura 13. Análisis genómico y funcional del potencial enzimático de <i>Cubamyces menziesii</i> . . | 38 |
| Figura 14. Árbol filogenético de enzimas CAZymes AA1 (oxidasas multicobre) basado en el alineamiento del dominio catalítico. | 40 |
| Figura 15. Árbol filogenético de enzimas CAZymes AA2 (peroxidasas clases II) basado en el alineamiento del dominio catalítico. | 41 |
| | |
| Tabla 1. Composición química de los medios de cultivo utilizados para evaluar la degradación de polímeros sintéticos por cepas de <i>Trametes</i> y <i>Cubamyces</i> | 17 |
| Tabla 2. Peso inicial estandarizado de los polímeros de estudio. | 18 |
| Tabla 3. Clasificación molecular de las cepas mediante análisis de secuencias ITS y NL | 24 |
| Tabla 4. Genes ITS de origen de análisis del proyecto y descargados de GenBank para corroborar el análisis de filogenia. | 26 |
| | |
| Anexo 1. Alineamiento local de la región ITS entre <i>Cubamyces menziesii</i> (TV2 vs TV4)..... | 51 |
| Anexo 2. Alineamiento local de la región ITS entre <i>Cubamyces menziesii</i> (TV2 vs TV4)..... | 52 |

Resumen

La acumulación de residuos plásticos representa un problema ambiental debido a la persistencia y resistencia de muchos polímeros sintéticos frente a los procesos naturales de degradación. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial degradativo de hongos ligninolíticos frente a distintos polímeros sintéticos bajo condiciones *in vitro*. Se integró análisis de pérdida de peso, caracterización química mediante espectroscopía infrarroja y análisis genómico orientado a identificar enzimas asociadas a procesos oxidativos. Se evaluó la degradación de distintos polímeros bajo variaciones de pH, exposición a radiación ultravioleta y disponibilidad de glucosa. La identificación molecular permitió reconocer cepas pertenecientes a *Trametes versicolor*, *Trametes hirsuta* y *Cubamyces menziesii*. El polipropileno presentó modificaciones químicas superficiales, principalmente en tratamientos asociados a una cepa de *Cubamyces menziesii* (TV2), lo que evidencia señales relacionadas con procesos iniciales de oxidación superficial. El análisis genómico de esta cepa reveló un repertorio enzimático oxidativo diverso, asociado a enzimas implicadas en mecanismos de oxidación extracelular. Estos resultados sugieren que esta cepa de hongo ligninolítico tiene potencial biotecnológico para participar en las etapas iniciales de la transformación de polímeros sintéticos.

Palabras clave: biodegradación, enzimas oxidativas, espectroscopía infrarroja, hongos ligninolíticos, oxidación superficial, polipropileno.

Director de tesis: Rodrigo Sebastián Caroca Cáceres

Abstract

The accumulation of plastic waste poses an environmental problem due to the persistence and resistance of many synthetic polymers to natural degradation processes. The objective of this study was to evaluate the degradative potential of ligninolytic fungi against various synthetic polymers under in vitro conditions. The study incorporated weight loss analysis, chemical characterization via infrared spectroscopy, and genomic analysis aimed at identifying enzymes associated with oxidative processes. The degradation of various polymers was evaluated under varying pH conditions, exposure to ultraviolet radiation, and glucose availability. Molecular identification allowed for the recognition of strains belonging to *Trametes versicolor*, *Trametes hirsuta*, and *Cubamyces menziesii*. Polypropylene exhibited surface chemical modifications, primarily in treatments associated with a strain of *Cubamyces menziesii* (TV2), which indicates signs related to initial surface oxidation processes. Genomic analysis of this strain revealed a diverse oxidative enzyme repertoire, associated with enzymes involved in extracellular oxidation mechanisms. These results suggest that this strain of ligninolytic fungus has biotechnological potential to participate in the initial stages of synthetic polymer transformation.

Keywords: biodegradation, oxidative enzymes, infrared spectroscopy, ligninolytic fungi, surface oxidation, polypropylene.

Thesis supervisor: Rodrigo Sebastián Caroca Cáceres