

Biodiversidad y potencial hidrocarbonoclástico de hongos aislados de crudo y sus derivados: Un meta-análisis

Beatriz Pernía*, Jhonny Rafael Demey, Ysvic Inojosa, y Leopoldo Naranjo-Briceño

Dirección de Área de Energía y Ambiente, Fundación Instituto de Estudios Avanzados (IDEA), Sartenejas, Caracas 1080, Venezuela, <http://www.idea.gob.ve/>

*Autor de correspondencia: bpernia@idea.gob.ve

Resumen

La explotación, producción, refinación y transporte de petróleo y sus derivados conlleva ocasionalmente accidentes técnicos y operacionales que causan severo deterioro al ambiente. Existen hongos capaces de biotransformar o biodegradar hidrocarburos que pueden ser utilizados como estrategia en la micorremediación de aguas y suelos impactados por la actividad petrolera. Con el objetivo de determinar la diversidad de hongos aislados de diferentes sustratos contaminados con hidrocarburos y sus derivados, así como determinar su capacidad degradativa, se realizaron meta-análisis utilizando la información disponible en las bases de datos científicas Web of Science y SciFinder Scholar. Los resultados de los meta-análisis mostraron que, del total de hongos reportados como aislados de crudo, sus derivados, y sustratos impactados con hidrocarburos, 83% pertenecen al Phylum Ascomycota, 10% al Phylum Zygomycota, 6% al Phylum Glomeromycota y 1% al Phylum Basidiomycota. Los sustratos con mayor diversidad fúngica fueron los suelos impactados con crudo y asfalto natural, obteniéndose la menor diversidad en suelos contaminados con diesel y gasolina. Los géneros de mayor frecuencia fueron *Penicillium* (18%), *Aspergillus* (17%) y *Fusarium* (6%). En función del porcentaje de degradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH), el grupo que presentó mayor degradación fue el formado por los géneros *Phanerochaete*, *Coriolus*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Bjerkandera*, *Rhizopus*, *Emerciella* y *Aspergillus* (TPH: 52 ± 3.53) y, con respecto a las fracciones de saturados y aromáticos del crudo, los grupos formados por los géneros *Phanerochaete*, *Coriolopsis*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Emerciella*, *Fusarium* y *Beauveria* ($74.43 \pm 3.40\%$) y *Trametes*, *Pleurotus*, *Fusarium* y *Coriolopsis* ($97.75 \pm 2.25\%$), respectivamente. Así mismo, se encontraron evidencias de degradación de las fracciones de resinas y asfaltenos (10-28% y 10-40%, respectivamente) por los géneros *Aspergillus*, *Candida*, *Emericella*, *Eupenicillium*, *Fusarium*, *Graphium*, *Neosartorya*, *Paecilomyces* y *Pichia*. Este trabajo representa el primer meta-análisis sobre la diversidad fúngica aislada de ambientes contaminados con crudo y sus derivados, así como de su capacidad hidrocarbonoclástica, a través de la revisión detallada de trabajos científicos publicados en los últimos 50 años y el análisis de sus resultados.

Palabras clave: degradación, hidrocarburos, hongos, micorremediación, petróleo

Biodiversity and hydrocarbonoclastic potential of fungi isolated from crude and petroleum derivatives: a meta-analysis

Abstract

Exploitation, production, refining and transportation of crude oil and its derivatives occasionally involves technical and operational accidents causing damage to the environment. Some fungi inhabiting oil-polluted environments are able to transform oil hydrocarbons so they have a high potential to be used in mycoremediation strategies of oil-polluted soil and water by the oil industries activities. In order to determine the fungal diversity isolated from crude oil, water and oil-polluted soils, and hydrocarbon contaminated environments, as well to determine their hydrocarbon degradative capabilities, meta-analysis using information reported in Web of Science and SciFinder Scholar scientific databases were performed. The results showed that the total of fungal diversity isolated is constituted by Phylum Ascomycota (83%), Zygomycota (10%), Glomeromycota (6%), and Basidiomycota (1%). The substrates with major diversity were oil-polluted soils and natural asphalt. Members of the genus *Penicillium* (18%), *Aspergillus* (17%) and *Fusarium* (6%) were the most predominant. The genus with a major percentage of total petroleum hydrocarbons (TPH) degradation were: *Phanerochaete*, *Coriolus*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Bjerkandera*, *Rhizopus*, *Emerciella* and *Aspergillus* (52 ± 3.53), respect to degradation of saturate and aromatic fractions of crude oil were obtained two groups formed by the genus: *Phanerochaete*, *Coriolopsis*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Emerciella*, *Fusarium* and *Beauveria* ($74.43\pm 3.40\%$), and *Trametes*, *Pleurotus*, *Fusarium* and *Coriolopsis* ($97.75\pm 2.25\%$), respectively. Likewise, evidence of degradation of resins and asphaltenes fractions of crude oil (10-28% and 10-40%, respectively) were reported by the genus *Aspergillus*, *Candida*, *Emericella*, *Eupenicillium*, *Fusarium*, *Graphium*, *Neosartorya*, *Paecilomyces* and *Pichia*. This work represents the first meta-analysis of fungal diversity isolated from crude oil, its derivatives, and hydrocarbon contaminated environments, including their hydrocarbonoclastic capabilities, through a detailed review of scientific papers published in the last 50 years and analysis of results.

Key words: *degradation, hydrocarbons, mycorremediation, petroleum, SARA*

1. Introducción

La explotación, producción, refinación y transporte de petróleo y sus derivados conlleva ocasionalmente accidentes técnicos y operacionales que causan severo deterioro al ambiente y que pueden llegar a generar daños irreversibles a los ecosistemas, afectando a la flora, la fauna y la composición de las comunidades microbianas autóctonas (Bartha y Atlas, 1977; Amund *et al.* 1987; Odokuma y Opokwasili, 1992; Obire, 1993). Debido al enriquecimiento selectivo de ciertos

microorganismos más tolerantes, resultan favorecidas aquellas especies capaces de adaptarse y crecer en presencia de estos compuestos tóxicos y recalcitrantes (Benka-Coker y Ekundayo, 1997). Así mismo, la distribución de microorganismos capaces de utilizar hidrocarburos depende de la presión selectiva ejercida por los hidrocarburos en un determinado ambiente (Atlas y Bartha, 1972; Calomiris *et al.* 1986). El aislamiento de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) a partir de ecosistemas

contaminados o de hábitats extremos ha evidenciado la existencia de ciertos hongos capaces de biotransformar hidrocarburos en compuestos menos tóxicos o inocuos para el ambiente. Esto ha permitido el desarrollo de la *micorremediación* como una estrategia viable para el saneamiento de cuerpos de agua y suelos contaminados con hidrocarburos (Chaillan *et al.* 2004, Moreno *et al.* 2004). El presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de la biodiversidad de hongos que han sido aislados de crudo, sus derivados y de ambientes contaminados con hidrocarburos; así como conocer su capacidad para degradar hidrocarburos y las fracciones que lo componen.

2. Materiales y métodos

Para realizar los meta-análisis que constituyen la presente revisión, la información sobre géneros y especies de hongos aislados de hidrocarburos, sustratos contaminados con crudo y sus derivados, así como de su capacidad de degradación de crudo y sus fracciones de saturados, aromáticos, resinas, y asfaltenos (SARA), fue extraída de las bases de datos Web of Science (del año 1900 al 2012) y SciFinder Scholar (del año 1940 al 2012). En este caso, se define como sustrato a aquel tipo de hidrocarburo o derivado del mismo que impregna o no una determinada porción suelo o de agua. En esta revisión se estudiaron los siguientes tipos de sustrato: crudo (C); suelo contaminado con crudo (SC); agua contaminada con crudo (AC); suelo contaminado con gasolina (SG); suelo contaminado con kerosene (SK); sedimento de río contaminado con crudo (SR); diesel (D); gasolina (G) y; lago natural de asfalto (LA). La búsqueda generó una matriz de dimensión $n \times p$, donde n es el número total de hongos aislados en hidrocarburos y p el número de variables referidas a género, especie, Phylum, Orden, tipo de sustrato,

porcentaje de degradación de crudo y sus fracciones SARA (Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos). Se realizaron análisis descriptivos para cada una de las variables, se determinó la biodiversidad por sustrato y se aplicaron técnicas de clasificación (análisis de conglomerados) para configurar grupos funcionales de hongos con capacidad de degradación de crudo y sus derivados. En el caso de los meta-análisis realizados para determinar la capacidad degradativa de hongos, se utilizó la mayor tasa porcentual de degradación reportada para todos los casos. Todos los análisis se realizaron usando el paquete estadístico InfoStat, Versión 2010 (Di Rienzo *et al.* 2010).

3. Resultados y discusión

3.1. Biodiversidad de hongos aislados de crudo, sus derivados y suelos contaminados

El primer reporte de crecimiento de hongos en hidrocarburos lo realizó Miyoshi en el año 1895, donde observó crecimiento de *Botrytis cinerea* sobre parafina (Zobell, 1946). Posteriormente, en 1906 Rahn observó que *Penicillium glaucum* era capaz de descomponer la parafina y utilizarla como única fuente de carbono y energía (Zobell, 1946). A partir de esta fecha, han sido numerosos los trabajos donde se reporta el crecimiento de hongos y levaduras en diferentes medios con hidrocarburos.

La mayor cantidad de reportes de hongos aislados de crudos han sido realizados en suelos contaminados. Radwan *et al.* (1995) aislaron los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* de muestras de suelos desérticos contaminados en Kuwait. Estos microorganismos también fueron aislados de suelos contaminados en Arabia Saudita (Snellman *et al.* 1988; Bokhary y Parvez, 1993; Hashem, 1995). Por otro lado, Colombo *et al.* (1996) aislaron *Aspergillus terreus* y *Fusarium solani* en un suelo naturalmente contaminado con

hidrocarburos en Argentina. En un estudio similar en Indonesia se aislaron los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Amorphoteca*, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Talaromyces* y *Graphium* (Chosson *et al.* 1991) y, en el Golfo de México, a *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Cordyceps sinensis*, *Gibberella fujikoroii*, *Hypocrea lixii*, *Penicillium decumbens*, *Pleospora herbarum*, *Sphaerodes retispora* y *Cochliobolus lunatus* (Al-Nasrawi, 2012).

Nkwelang, *et al.* (2008), en Nigeria, reportaron una sucesión de microorganismos presente en un suelo contaminado con crudo y crudo emulsionado, en un lapso de tiempo de 3 meses, durante la época de sequía y lluviosa. Estos autores encontraron que no todos los hongos aislados al inicio del experimento fueron encontrados al final del mismo. Sin embargo, los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* fueron aislados al final de los cuatro tratamientos lo que indica que estos dos géneros son capaces de sobrevivir en el tiempo en suelos contaminados con crudos. Estos hallazgos apuntalan la explicación de que las especies más comunes que se reportan en la mayoría de los trabajos son *Aspergillus* y *Penicillium* (Nyns *et al.* 1968; Llanos y Kjoller, 1976; Oudot *et al.* 1987; Snellman *et al.* 1988; Bokhary y Parvez, 1993; Oudot *et al.* 1993; April *et al.* 2000). Por otra parte, algunos de los microorganismos aislados, aun no siendo hidrocarbonoclasticos, pudieran ser capaces de sobrevivir a dichas condiciones, lo que sugiere que no todas las especies de hongos presentes en el suelo contaminado son capaces de tolerar y utilizar hidrocarburos como fuente de carbono y energía.

Salmanov *et al.* (2008) realizaron un estudio ecológico a niveles cualitativos y cuantitativos de la micoflora presente en agua y suelo impactados con crudo en la Península de Absheron en el Mar Caspio. En las muestras de agua se encontraron 7 especies de hongos donde el género más común fue *Penicillium* detectado en un

58.3% de las muestras totales de agua. Los géneros más frecuentemente aislados fueron: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Cephalosporium* y *Fusarium*.

Naranjo *et al.* (2007) aislaron cepas de hongos del lago natural de asfalto de Guanaco (Edo. Sucre, Venezuela) capaces de crecer sobre crudo extrapesado y varios hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), tales como naftaleno, dibenzotiofeno, fenantreno y pireno, pertenecientes a los géneros: *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Neosartorya*, *Pseudallescheria*, *Cladosporium*, *Pestalotiopsis*, *Phoma* y *Paecilomyces*.

Por otro lado, estudios realizados en sistemas de distribución de hidrocarburos se ha reportado el aislamiento de diversas cepas de hongos. En Nigeria, Ifeanyichukwu (1996) aisló especies de los géneros *Penicillium* y *Cunninghamella* en tanques de almacenamiento de crudo. Bento y Gaylarde (2001) aislaron de una refinería y de los sistemas de distribución de diesel las especies: *Hormoconis resiniae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium* sp., y las levaduras *Candida silvicola* y *Rhodotorula glutinis*. Por otra parte, en muestras de gasolina se han aislado los hongos filamentosos: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Phialophora* y las levaduras *Candida* y *Rhodotorula* (Hettige y Sheridan, 1984; Gaylarde *et al.* 1999).

Se han realizado diversas investigaciones en las cuales se reporta el aislamiento de microorganismos a partir de suelos impactados por derivados del petróleo. Wemedo *et al.* (2002), en Nigeria, aislaron de suelo contaminado con kerosene los géneros de hongos: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*. Otros estudios realizados en Egipto encontraron en suelos contaminados con kerosén y/o benceno, los hongos: *Amorphoteca resiniae*, *Aspergillus*

flavus, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Emericella nidulans*, *Fusarium solani*, *Penicillium funiculosum*, *Rhizopus stolonifer* y *Trichoderma harzianum* (Hemida *et al.* 1993). También se han aislado hongos de un suelo contaminado con aceite lubricante: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. ochraceus*, y *Trichoderma sp.* (Sebiomo *et al.* 2010); aceite de motor: *Candida tropicalis* (Farag y Soliman, 2011) y, en bitumen: *Aspergillus fumigatus*, *A. oryzae*, *A. wentii*, *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium notatum*, *Rhizopus stolonifer*, *Rhodotorula sp.* y *Trichoderma sp.* (Oboh *et al.* 2006). Los resultados de la revisión bibliográfica y los meta-análisis realizados permitieron

determinar que del total de hongos y levaduras aisladas de hidrocarburos, el 83% pertenecen al Phylum Ascomycota, 10% al Phylum Zygomycota, el 6% al Phylum Glomeromycota y 1 % al Phylum Basidiomycota (Figura 1). Debido a que el Phylum Ascomycota fue el que se encontró reportado en mayor proporción, se determinaron los órdenes más comunes reportados para dicho Phylum, encontrándose que el orden Eurotiales se encuentra en mayor proporción (54%), seguido por el orden Hypocreales (18%), Microascales (6%) y Saccharomycetales (5%) (Figura 1).

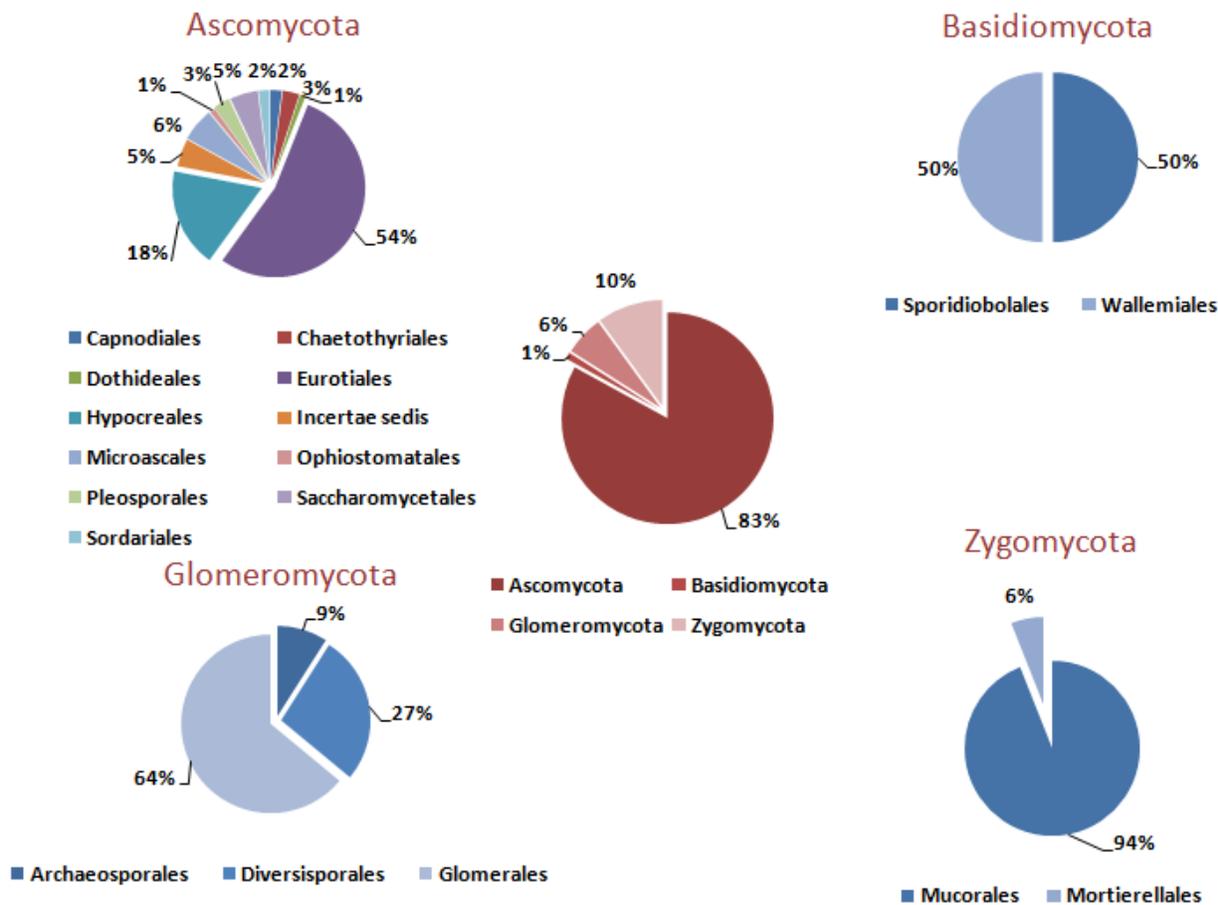


Figura 1. Frecuencias relativas de los distintos Phyla y Ordenes del Reino Fungi aislados de crudo, sus derivados y de suelos contaminados reportados en trabajos de investigación publicados en revistas registradas en las bases de datos Web of Science (1900-2010) y SciFinder Scholar (1940-2010).

Así mismo, a partir del meta-análisis se pudo determinar que los géneros de hongos que aparecieron con mayor frecuencia en crudo y sus derivados (diesel y gasolina) fueron: *Penicillium* (18%), *Aspergillus* (17%) y *Fusarium* (6%), seguidos por *Rhizopus* (4%), *Trichoderma* (4%) y *Acremonium* (3%), tal como muestra la Figura 2. Las especies más representativas del género *Aspergillus* fueron las especies *A. niger* (21%), *A. fumigatus* (18%), *A. flavus* (10%) y *A. terreus* (10%). De igual forma, para el género *Fusarium*, la especie más frecuente fue *F. solani* (23%) y, para *Penicillium*, la mayor frecuencia está representada por *Penicillium* sp. (especies sin determinar, 23%), seguido de las especies, *P. funiculosum*, *P. janthinellum*, *P. oxalicum*, *P. pinophilum*, *P. purpurogenum* y *P. simplicissimum*. Aunado a ello, *Penicillium* resultó ser el género más cosmopolita ya que se aisló en todos los sustratos reportados menos en suelo impactado con diesel, tal como indica la Figura 3.

En la Figura 1, se observa que el Phylum que aparece más frecuente en hidrocarburos es el Phylum Ascomycota. La posible explicación de la predominancia de hongos del Phylum Ascomycota podría deberse a que la mayoría de ellos son habitantes comunes de suelo, lo cual los expone a este tipo de contaminantes y a que algunos son capaces de sintetizar enzimas oxidativas extracelulares del sistema de degradación de lignina, tales como lacasa, lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa, entre otras, asociadas también a la degradación de hidrocarburos (Naranjo et al., 2007). Además de ello, el Phylum Ascomycota ha demostrado una plasticidad genética o habilidad para que un determinado genotipo pueda cambiar y producir diferentes fenotipos debido a su exposición a factores bióticos y abióticos, lo que ha permitido poder realizar asociaciones simbióticas y colonizar una mayor cantidad de nichos. Se ha reportado que el 98% de los hongos terrestres pertenecen a los Phyla Ascomycota y Basidiomycota, sin embargo, el Phylum

Ascomycota presenta más del doble de especies que el Phylum Basidiomycota y existen evidencias moleculares de que el Phylum Ascomycota presenta una mayor tasa de evolución (Wang et al. 2010).

En nuestro estudio, dentro del Phylum Ascomycota el orden más común fue Eurotiales, debido a que a él pertenecen los géneros con mayor frecuencia de aparición *Penicillium* y *Aspergillus*; seguido por el orden Hipocreales donde se encuentran los géneros *Fusarium*, *Trichoderma* y *Acremonium* (Figura 2). La incidencia en la aparición de estos géneros y sus especies más frecuentes, podría deberse a que han sido reportados como hongos cosmopolitas de distribución mundial, tal es el caso de las especies *Acremonium* sp., *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* y *A. terreus*, *Penicillium frequentans*, *P. oxalicum* y *P. simplicissimum*, *Fusarium solani*, y *Trichoderma viride* (Domsch et al. 1980), por lo que es probable que estas especies hayan desarrollado mecanismos de tolerancia a los hidrocarburos. De estas especies, *Penicillium* ha demostrado una capacidad de adaptación a numerosos nichos y, como se observa en la Figura 3, se han aislado de hidrocarburos (crudo y diesel) y de todos los sustratos impactados con hidrocarburos (suelo y agua). Por tal razón, Leitão (2009) propone el uso de especies del género *Penicillium* para procesos de biorremediación de compuestos tóxicos, tales como fenoles, HAPs y metales pesados. Por otro lado, con la finalidad de conocer la biodiversidad de hongos presentes en los distintos hidrocarburos y suelos contaminados, se determinó el índice de biodiversidad de Shannon-Wiener (Figura 4), encontrándose que la mayor diversidad se encontró en suelos impactados con crudo (3.02) seguido por el lago natural de asfalto de Guanoco (2.15). Los sustratos que presentaron una menor diversidad fueron suelos contaminados con gasolina y diesel (0.00).

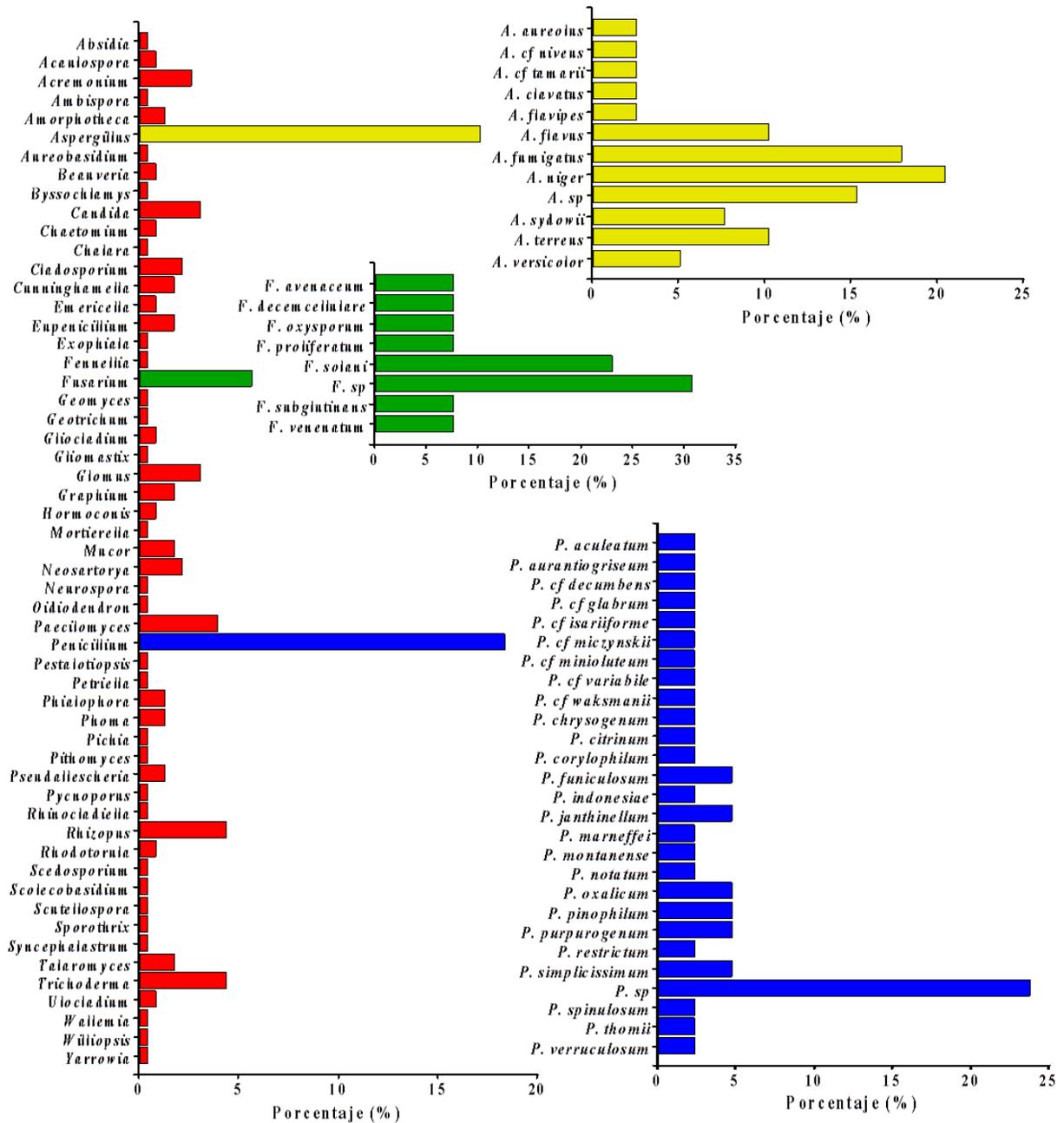


Figura 2. Distribución de los géneros y especies de hongos aislados más representativos en sustratos contaminados con crudo y sus derivados.



Figura 3. Patrón de distribución de los géneros de hongos aislados por sustrato. **AC:** agua contaminada con crudo; **C:** crudo; **D:** diesel, **G:** gasolina; **LA:** lago de asfalto; **SC:** suelo contaminado con crudo; **SD:** suelo contaminado con diesel; **SG:** suelo contaminado con gasolina; **SK:** suelo contaminado con kerosén; **SR:** sedimento de río.

Como se observa en la Figura 4, tomando en cuenta los sustratos estudiados (Ver apartado de Materiales y Métodos), la mayor biodiversidad de hongos se ha registrado en suelos impactados con crudo. Además de la existencia de una mayor cantidad de trabajos científicos sobre hongos aislados de suelos contaminados, esta preponderancia de

hongos en suelo en comparación a los aislados en agua podría deberse a que, según Hyde *et al.* (2007), existen aproximadamente 1,5 millones de especies de hongos, de las cuales solo alrededor de 3,000 especies están asociadas a hábitats acuáticos (Shearer *et al.* 2007), por lo que el suelo presenta una mayor diversidad de hongos *per se*.

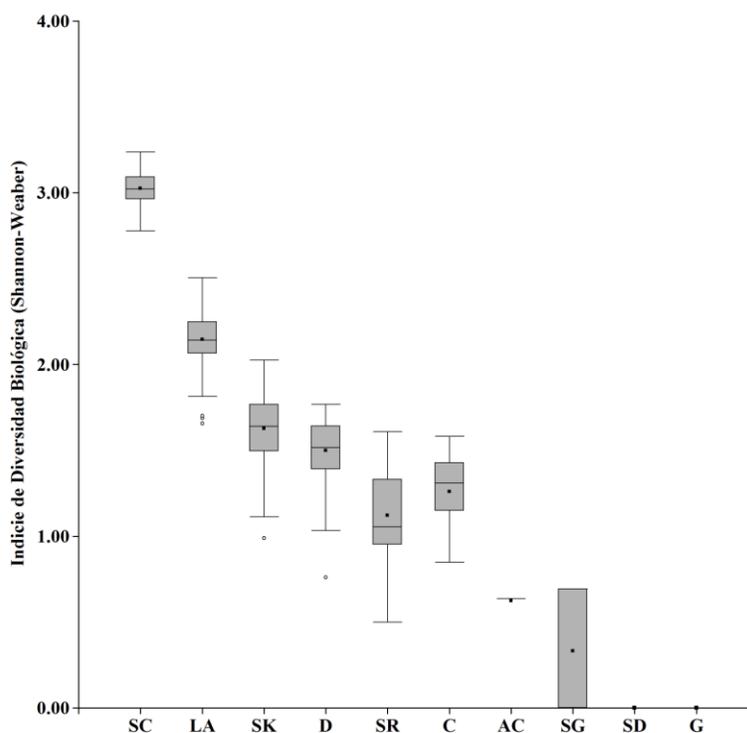


Figura 4. Distribución del Índice de biodiversidad de Shannon-Wiener para los hongos aislados según el sustrato. SC: suelo contaminado con crudo; LA: lago de asfalto; SK: suelo contaminado con kerosén; D: diesel; SR: sedimento de río; C: crudo; AC: agua contaminada con crudo; SG: suelo contaminado con gasolina; SD: suelo contaminado con diesel; G: gasolina. Los box-plot para cada sustrato fueron generados por el remuestreo (n=500) del vector de frecuencia de cada género por sustrato.

3.2. Capacidad de degradación de crudo, sus fracciones y derivados por hongos

3.2.1. Degradación de crudo

Aunque son numerosas las especies de hongos aisladas en suelos contaminados, no todas tienen la capacidad de degradar los hidrocarburos. Por ejemplo, April *et al.* (2000) aislaron 64 especies de hongos filamentosos en un suelo impactado con crudo en Canadá, de los cuales sólo 6

géneros mostraron habilidad para degradar hidrocarburos. Es por ello, que en la siguiente sección, se presentan los géneros y especies de hongos descritas que poseen capacidad hidrocarbonoclástica.

En cuanto a las evidencias de degradación de crudo por hongos en condiciones de laboratorio, Chaineau *et al.* (1999), aislaron cepas de suelos agrícolas en Francia y evaluaron su capacidad de degradar crudo

(179 mg de crudo en 150 mL de medio de cultivo) en 30 días mediante cromatografía de gases (CG), encontrando que las especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Beauveria*, *Fusarium*, *Cladosporium* y *Gongronella* poseían dicha habilidad. En especial, encontraron una alta capacidad degradativa en la especie *Beauveria alba*, la cual fue capaz de degradar 49% del crudo, seguida de *Penicillium simplicissimum* con 45%.

Por otro lado, Meysami y Baheri (2003) estudiaron en condiciones de laboratorio la degradación de crudo determinada por la reducción de TPH por método gravimétrico en un suelo artificialmente contaminado con 10,000 ppm de crudo, observando que varias cepas de los hongos *Bjerkandera adusta*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pilmanarius* y *Trametes versicolor* eran capaces de reducir hasta un 50% del TPH en 35 días.

De igual forma, Kristanti *et al.* (2011) estudiaron en condiciones de laboratorio la capacidad degradativa del hongo *Polyporus* sp. S133 en medio líquido con 1,000 ppm de crudo y en suelo con 3,000 ppm de crudo, encontraron una tasa de degradación de 93 y 43% en 60 días, respectivamente.

Obuekwe *et al.* (2005) aislaron en el desierto de Kuwait las especies halotolerantes *Fusarium lateritium*, *Drechslera* sp. y *Papulospora* sp., observando que estas eran capaces de degradar crudo (0,8 g de crudo en 100 mL de medio) en un 18, 26 y 9%, respectivamente.

Por otro lado, en un experimento de bioaugmentación y bioestimulación en condiciones de laboratorio, Mancera-López *et al.* (2008), encontraron un porcentaje de degradación de TPH en suelo contaminado con 60,600 ppm de crudo de 47, 40 y 45% utilizando los hongos *Rhizopus* sp., *Aspergillus sydowii* y *Penicillium funiculosum*, respectivamente. Por otro lado, Adenipekun y Fasidi (2005) encontraron en suelo contaminado con crudo en Nigeria, un porcentaje de reducción de TPH de 20% en 3 meses y 40% en 6 meses de exposición al hongo *Lentinus subnudus*.

Con la finalidad de establecer grupos de hongos con la capacidad de reducir niveles de TPH, se realizó un análisis de conglomerados (Figura 5), donde fueron identificados tres grupos de géneros según su capacidad de degradar crudo. El grupo de mayor capacidad fue conformado por los géneros: *Phanerochaete*, *Coriolus*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Bjerkandera*, *Rhizopus*, *Emerciella* y *Aspergillus* con $52.00 \pm 3.53\%$. El grupo de capacidad intermedia integrado por: *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Glomus*, *Drechslera*, *Verticillium*, *Cladosporium*, *Lentinus*, *Candida*, *Beauveria*; *Trichoderma*, *Syncephalastrum*, *Eupenicillium*, *Graphium* y *Acremonium* con un $27.52 \pm 2.38\%$. Finalmente, el grupo de hongos con menor capacidad degradativa fue conformado por: *Papulaspora*, *Gongronella*, *Scolecobasidium*, *Saccharomycopsis*, *Fusarium*, *Tolypocladium*, *Cunninghamella* con un porcentaje de degradación de $13.22 \pm 3.53\%$ (Figura 5).

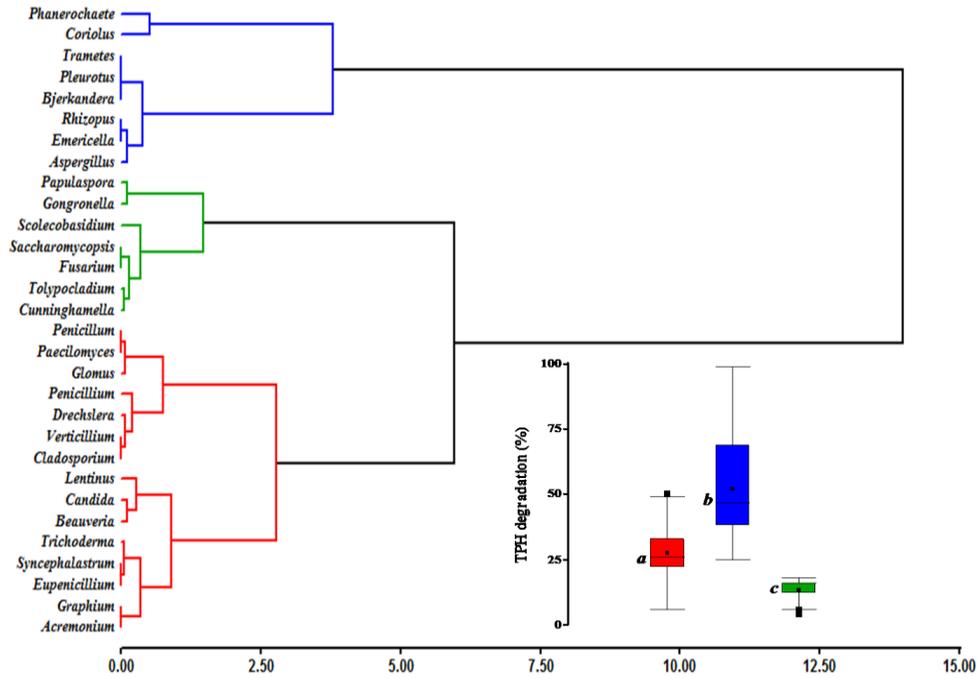


Figura 5. Representación del patrón de distribución de grupos homogéneos de géneros de hongos según su capacidad para degradar crudo, generada a través del análisis por conglomerados utilizando como algoritmo de encadenamiento el UPGMA y la distancia euclídeana entre las frecuencias observadas por género. En el lado inferior derecho se presenta la distribución del porcentaje de TPH por grupo, donde se muestra que existen diferencias significativas entre grupos de degradación ($p \leq 0.05$). Cada grupo de hongos está representado por un color (azul, rojo y verde).

A nivel de especies, en la Tabla 1, se señalan aquellas que presentaron un mayor porcentaje de degradación de crudo donde se destacan: *Aspergillus versicolor* (99%), *Aspergillus niger* (80%), *Coriolus versicolor* (78%), *Phanerochaete chrysosporium* (69%), *Pleurotus ostreatus* (53%), *Trametes*

versicolor (50%) y *Trichoderma* sp. (50%). A pesar de la capacidad de ciertos hongos de degradar crudo, existen marcadas diferencias en la degradación de sus diferentes fracciones SARA, tal como se detalla a continuación.

Tabla 1. Hongos aislados de crudo, sus derivados, suelos y aguas contaminadas con hidrocarburos. reportados en trabajos de investigación publicados en revistas registradas en las bases de datos Web of Science (1940-2010) y SciFinder Scholar (1940-2010).

Especie	Phylum	Orden	Origen	Lugar de aislamiento	Referencia
<i>Absidia</i> sp. Tiegh	Zygomycota	Mucorales	SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
<i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe (1974)	Glomeromycota	Diversisporales	SC	Tabasco, México	Franco-Ramírez <i>et al.</i> 2007
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe (1977)	Glomeromycota	Diversisporales	SC	Tabasco, México	Franco-Ramírez <i>et al.</i> 2007

<i>Acronium</i> sp. Link	Ascomycota	Hypocreales	SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
			SR	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
			SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Acronium butyri</i> (J.F.H. Beyma) W. Gams (1971)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Acronium kiliense</i> Grütz (1925)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Acronium strictum</i> W. Gams (1971)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. (1912)	Ascomycota	Pleosporales	SC	Golfo de mexico	Al-Nasrawi, 2012
<i>Ambispora gerdemannii</i> (S.L. Rose, B.A. Daniels & Trappe) C. Walker, Vestberg & A. Schüssler (2007)	Glomeromycota	Archaeosporales	SC	Tabasco, México	Franco-Ramírez <i>et al.</i> 2007
<i>Amorphotheca</i> sp.			SC	Utah, USA	Chosson <i>et al.</i> 1991
<i>Amorphotheca resiniae</i> Parbery (1969) = <i>Cladosporium resiniae</i>	Ascomycota		SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993
<i>Aspergillus</i> sp.	Ascomycota	Eurotiales	SC	Delta Niger, Nigeria	Benka-Coker y Ekundayo, 1997
			SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Desierto de Kuwait	Radwan <i>et al.</i> 1995
			SC	Tabasco, México	Rivera-Cruz <i>et al.</i> 2002
			AC	Rios Omuihuechi y New Calabar, Nigeria	Okerentugba y Ezeronye, 2003
			SK	Nigeria	Wemedo <i>et al.</i> 2002
<i>Aspergillus aureolus</i> Fennell & Raper 1955	Ascomycota	Eurotiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Aspergillus clavatus</i> Desm. (1834)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004

<i>Aspergillus flavipes</i> (Bainier & R. Sartory) Thom & Church (1926)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
<i>Aspergillus flavus</i> Link (1809)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Arabia Saudita	Bokhary y Parvez, 1993
			SC	Delta del Níger, Nigeria	Gesinde <i>et al.</i> 2008
			SC	Emene, Nigeria	Uzoamaka <i>et al.</i> 2009
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen. (1863)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
			SC	Willesden Green, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
			SC	Delta del Níger, Nigeria	Gesinde <i>et al.</i> 2008
			D	Brasil	Bento y Gaylarde, 2001
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993
			LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh. (1867)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Arabia Saudita	Bokhary y Parvez, 1993
			SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
			SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
			SC	Delta, Nigeria	Gesinde <i>et al.</i> 2008
			SC	Emene, Nigeria	Uzoamaka <i>et al.</i> 2009
			SC	Golfo de México	Al-Nasrawi, 2012
			D	Brasil	Bento y Gaylarde, 2001
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993
			<i>Aspergillus cf. niveus</i> Blochwitz (1929)	Ascomycota	Eurotiales
<i>Aspergillus sydowii</i> (Bainier & Sartory) Thom & Church (1926)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
			SC	Isla Borneo,	Chaillan <i>et al.</i>

				Indonesia	2004
			SC	Veracruz, México	Mancera-López <i>et al.</i> 2008
<i>Aspergillus cf. tamarii</i> Kita (1913)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Kindersley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Aspergillus terreus</i> Thom (1918)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
			SG	Mar de Ajo, Argentina	Colombo <i>et al.</i> 1996
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993
			LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tirab. (1908)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Emene, Nigeria	Uzoamaka <i>et al.</i> 2009
			SC	Enugu, Nigeria	Uzoamaka <i>et al.</i> 2009
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) G. Arnaud (1918)	Ascomycota	Dothideales	SC	Boundary Lake, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Beauveria</i> sp.	Ascomycota	Hypocreales	SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill. (1912)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Byssochlamys nivea</i> Westling (1909)	Ascomycota	Eurotiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Candida</i> sp.	Ascomycota	Saccharomycetales	SC	Delta Niger, Nigeria	Benka-Coker y Ekundayo, 1997
<i>Candida lipolytica</i> (F.C. Harrison) Diddens & Lodder (1942)	Ascomycota	Saccharomycetales	D		Cerniglia y Crow, 1981
			C	Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Candida silvicola</i> Shifrine & Phaff (1956)	Ascomycota	Saccharomycetales	D	Brasil	Bento y Gaylarde, 2001
<i>Candida viswanathii</i> Sandu & H.S. Randhawa (1962)	Ascomycota	Saccharomycetales	C	Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Chaetomium bostrychodes</i> Zopf (1877)	Ascomycota	Sordariales	SC	Arabia Saudita	Bokhary y Parvez, 1993
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze (1817)	Ascomycota	Sordariales	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000

<i>Chalara</i> sp.	Ascomycota		SC	Boundary Lake, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Cladosporium</i> sp.	Ascomycota	Capnodiales	SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries (1952)	Ascomycota	Capnodiales	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Cladosporium resinae</i> (Lindau) G.A. de Vries (1955)	Ascomycota	Capnodiales	G	USA	Colwell <i>et al.</i> 1977
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz. (1882)	Ascomycota	Capnodiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Cochliobolus lunatus</i> R.R. Nelson & F.A. Haasis (1964)	Ascomycota	Pleosporales	SC	Golfo de México	Al-Nasrawi, 2012
<i>Cordyceps sinensis</i> (Berk.) Sacc. (1878)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Golfo de México	Al-Nasrawi, 2012
<i>Cunninghamella</i> sp.	Zygomycota	Mucorales	C	Ughelli, Nigeria	Ifeanychukwu, 1996
			C	Delta, Nigeria	Atagana, 1996
			SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
<i>Cunninghamella echinulata</i> (Thaxt.) Thaxt. (1903)	Zygomycota	Mucorales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Emericella nidulans</i> (Eidam) Vuill. (1927)	Ascomycota	Eurotiales	SR	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993
<i>Eupenicillium javanicum</i> (J.F.H. Beyma) Stolk & D.B. Scott (1967)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
<i>Eupenicillium limosum</i> S. Ueda (1995)	Ascomycota	Eurotiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
			SR	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
<i>Eupenicillium ochrosalmoneum</i> D.B. Scott & Stolk (1967)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004

<i>Exophiala jeanselmei</i> (Langeron) McGinnis & A.A. Padhye (1977)	Ascomycota	Chaetothyriales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Fennellia nivea</i> (B.J. Wiley & E.G. Simmons) Samson (1979)	Ascomycota	Eurotiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Fusarium</i> sp.	Ascomycota	Hypocreales	SC	Utah, USA	Chosson <i>et al.</i> 1991
			SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
			SK	Nigeria	Wemedo <i>et al.</i> 2002
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc. (1886)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Fusarium decemcellulare</i> Brick (1908)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. (1824)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Fusarium proliferatum</i> (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg (1976)	Ascomycota	Hypocreales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc. (1881)	Ascomycota	Hypocreales	SC	La Plata, Argentina	Colombo <i>et al.</i> 1996
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993
			LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Fusarium subglutinans</i> (Wollenw. & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas (1983)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Fusarium venenatum</i> Nirenberg (1995)			LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Geomyces pannorum</i> (Link) Sigler & J.W. Carmich. (1976)	Ascomycota	Incertae sedis	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Gibberella fujikuroi</i>	Ascomycota	Hypocreales	SC	Golfo de	Al-Nasrawi,

(Sawada) Wollenw. (1931)				méxico	2012
<i>Gliocladium catenulatum</i> J.C. Gilman & E.V. Abbott (1927)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Gliocladium virens</i> J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster (1958)	Ascomycota	Hypocreales	SR	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
<i>Glomastix</i> sp.	Ascomycota	Hypocreales	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Glomus ambisporum</i> G.S. Sm. & N.C. Schenck (1985)	Glomeromycota	Glomerales	SC	Tabasco, México	Franco-Ramírez <i>et al.</i> 2007
<i>Glomus caledonium</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) Trappe & Gerd. (1974)	Glomeromycota	Glomerales	SC	Shaanxi, China	Li <i>et al.</i> 2009
<i>Glomus citricola</i> D.Z. Tang & M. Zang (1984)	Glomeromycota	Glomerales	SC	Tabasco, México	Franco-Ramírez <i>et al.</i> 2007
<i>Glomus deserticola</i> Trappe, Bloss & J.A. Menge (1984)	Glomeromycota	Glomerales	SG	Mar de Ajo, Argentina	Cabello, 1999
<i>Glomus geosporum</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker (1982)	Glomeromycota	Glomerales	SGa	Berisso, Argentina	Cabello, 1999
<i>Glomus intraradices</i> N.C. Schenck & G.S. Sm. (1982)	Glomeromycota	Glomerales	SC	Ensenada, Argentina	Cabello, 1999
<i>Glomus sinuosum</i> (Gerd. & B.K. Bakshi) R.T. Almeida & N.C. Schenck (1990)	Glomeromycota	Glomerales	SC	Tabasco, México	Franco-Ramírez <i>et al.</i> 2007
<i>Graphium</i> sp.	Ascomycota	Microascales	SC	Utah, USA	Chosson <i>et al.</i> 1991
			SC	British Columbia	April <i>et al.</i> 1998
<i>Graphium putredinis</i> (Corda) S. Hughes (1958)	Ascomycota	Microascales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
			SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Hormoconis resiniae</i> (Lindau) Arx & G.A. de Vries (1973), (= <u><i>Amorphotheca resiniae</i></u>),	Ascomycota	Incertae sedis	D	Brasil	Bento y Gaylarde, 2001

			D	Nueva Zelanda	Hettige y Sheridan, 1984
<i>Hypocrea lixii</i> Pat. (1891)	Ascomycota	Hypocreales	SC	Golfo de México	Al-Nasrawi, 2012
<i>Mortierella</i> sp.	Zygomycota	Mortierellales	SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
<i>Mucor</i> sp.			SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
	Zygomycota	Mucorales	SC	Emene, Nigeria	Uzoamaka <i>et al.</i> 2009
<i>Mucor circinelloide</i> Tiegh. (1875)			SC	Guanajuato, México	Silva-Jiménez <i>et al.</i> 2009
			SK	Nigeria	Wemedo <i>et al.</i> 2002
<i>Neosartorya</i> sp.	Ascomycota	Eurotiales	SC	Utah, USA	Chosson <i>et al.</i> 1991
<i>Neosartorya fischeri</i> (Wehmer) Malloch & Cain (1973)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Neosartorya pseudofischeri</i> S.W. Peterson (1992)	Ascomycota	Eurotiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Neosartorya spinosa</i> (Raper & Fennell) Kozak. (1989) NS-1	Ascomycota	Eurotiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Neurospora sitophila</i> Shear & B.O. Dodge (1927)	Ascomycota	Sordariales	SC	Emene, Nigeria	Uzoamaka <i>et al.</i> 2009
<i>Oidiiodendron griseum</i> Robak (1934)	Ascomycota	Incertae sedis	SC	Boundary Lake, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Paecilomyces</i> sp.			SC	Utah, USA	Chosson <i>et al.</i> 1991
			SC	Tabasco, México	Rivera-Cruz <i>et al.</i> 2002
			SC	Boundary Lake, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Paecilomyces marquandii</i> (Masse) S. Hughes (1951)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier (1907)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004

			D	Brasil	Bento y Gaylarde, 2001
			D	Nueva Zelanda	Hettige y Sheridan, 1984
<i>Penicillium</i> sp.	Ascomycota	Eurotiales	C	Ughelli, Nigeria	Ifeanychukwu, 1996
			C	Delta, Nigeria	Atagana, 1996
			SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Desierto de Kuwait	Radwan <i>et al.</i> 1995
			SC	Tabasco, México	Rivera-Cruz <i>et al.</i> 2002
			AC	Rios Omuihuechi y New Calabar, Nigeria	Okerentugba y Ezeronye, 2003
			D	Brasil	Bento y Gaylarde, 2001
			SK	Nigeria	Wemedo <i>et al.</i> 2002
			SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
			LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Penicillium aculeatum</i> Raper & Fennell (1948)	Ascomycota	Eurotiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx (1901)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Kindersley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom (1910)	Ascomycota	Eurotiales	C	Refineria La Plata, Argentina	Colombo <i>et al.</i> 1996
<i>Penicillium citrinum</i> Sopp (1910)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
<i>Penicillium corylophilum</i> Dierckx (1901)	Ascomycota	Eurotiales	D	Nueva Zelanda	Hettige y Sheridan, 1984
<i>Penicillium cf. decumbens</i> Thom (1910)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Golfo de México	Al-Nasrawi, 2012
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom (1910)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Veracruz, México	Mancera-López <i>et al.</i> 2008
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993
<i>Penicillium cf. glabrum</i>	Ascomycota	Eurotiales	SC	Drayton Valley,	April <i>et al.</i> 2000

(Wehmer) Westling (1911)				Canadá	
<i>Penicillium indonesiae</i> Pitt (1980)	Ascomycota	Eurotiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Penicillium cf. isariiforme</i> Stolk & J.A. Mey. (1957)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge (1923), (= <u><i>Penicillium simplicissimum</i></u>)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Penicillium marneffeii</i> Segretain (1960)	Ascomycota	Eurotiales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Penicillium cf. miczynskii</i> K.M. Zalesky (1927)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Boundary Lake, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Penicillium cf. minioluteum</i> Dierckx (1901)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Kindersley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Penicillium montanense</i> M. Chr. & Backus (1963)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Penicillium notatum</i> Westling (1911), (= <u><i>Penicillium chrysogenum</i></u> var. <u><i>chrysogenum</i></u>)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Delta del Níger, Nigeria	Gesinde <i>et al.</i> 2008
<i>Penicillium oxalicum</i> Currie & Thom (1915)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
			LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Penicillium pinophilum</i> Thom (1910)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Kindersley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Penicillium purpurogenum</i> Fleroff (1906)	Ascomycota	Eurotiales	SR	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993
			SC	Boundary	April <i>et al.</i>

				Lake, Canadá	2000
<i>Penicillium restrictum</i> J.C. Gilman & E.V. Abbott (1927)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Penicillium simplicissimum</i> (Oudem.) Thom (1930)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
			LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Penicillium spinulosum</i> Thom (1910)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Penicillium thomii</i> Maire (1917)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Penicillium cf. variable</i> Sopp (1912)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Kindersley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Penicillium verruculosum</i> Peyronel (1913)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Penicillium cf. waksmanii</i> K.M. Zalessky (1927)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Pestalotiopsis palmarum</i> (Cooke) Steyaert (1949)	Ascomycota	Xylariales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Petriella sordida</i> (Zukal) G.L. Barron & J.C. Gilman (1961)	Ascomycota	Microascales	SC	British Columbia	April <i>et al.</i> 1998
<i>Phialophora</i> sp.	Ascomycota	Chaetothyriales	SC	Boundary Lake, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Phialophora americana</i> (Nannf.) S. Hughes (1958)	Ascomycota	Chaetothyriales	SC	Norman Wells, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Phialophora verrucosa</i> Medlar (1915)	Ascomycota	Chaetothyriales	SC	Norman Wells, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Phoma</i> sp.	Ascomycota	Pleosporales	SC	Boundary Lake, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
<i>Phoma glomerata</i> (Corda) Wollenw. & Hochapfel (1936)	Ascomycota	Pleosporales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Pithomyces</i> sp.	Ascomycota	Pleosporales	SC	Instalaciones	Valenzuela <i>et</i>

				ENAP, Chile	<i>al.</i> 2006
<i>Pleospora herbarum</i>	Ascomycota	Pleosporales	SC	Golfo de México	Al-Nasrawi, 2012
<i>Pseudallescheria boydii</i>	Ascomycota	Microascales	SC	British Columbia	April <i>et al.</i> 1998
<i>Pseudallescheria angusta</i> (Malloch & Cain) McGinnis, A.A. Padhye & Ajello (1982)	Ascomycota	Microascales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
(Shear) McGinnis, A.A. Padhye & Ajello (1982)			SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Pycnoporus sanguineus</i> (L.) Murrill (1904)	Basidiomycota	Polyporales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007
<i>Rhinocladiella atrovirens</i> Nannf. (1934)	Ascomycota	Chaetothyriales	SC	Kindersley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
	Zygomycota	Mucorales	SC	Desierto de Kuwait	Radwan <i>et al.</i> 1995
			SC	Delta, Nigeria	Benka-Coker y Ekundayo, 1997
<i>Rhizopus</i> sp.			SC	Arabia Saudita	Bokhary y Parvez, 1993
			SC	Veracruz, México	Mancera-López <i>et al.</i> 2008
			AC	Rios Omuihuechi y New Calabar, Nigeria	Okerentugba y Ezeronye, 2003
			SK	Nigeria	Wemedo <i>et al.</i> 2002
<i>Rhizopus arrhizus</i> A. Fisch. (1892)	Zygomycota	Mucorales	SC	Emene, Nigeria	Uzoamaka <i>et al.</i> 2009
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenb. (1821), (= <i>Rhizopus stolonifer</i>)	Zygomycota	Mucorales	SC	Delta del Níger, Nigeria	Gesinde <i>et al.</i> 2008
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill. (1902)	Zygomycota	Mucorales	SC	Kindersley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993
<i>Scedosporium</i> sp.	Ascomycota	Microascales	SC	British Columbia	April <i>et al.</i> 2000
<i>Scolecobasidium obovatum</i> Matsush. (1971)	Ascomycota	Incertae sedis	SC	Edmonton, Canadá	Davies y Westlake, 1978
<i>Scutellospora heterógama</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker &	Glomeromycota	Diversisporales	SC	Tabasco, México	Franco-Ramírez <i>et al.</i> 2007

F.E. Sanders (1986)						
<i>Sphaerodes retispora</i> (Udagawa & Cain) P.F. Cannon & D. Hawksw. (1982)	Melanosporales	Hypocreales	SC	Golfo de México	Al-Nasrawi, 2012	
<i>Sporothrix schenckii</i> Hektoen & C.F. Perkins (1900)	Ascomycota	Ophiostomatales	SC	Drayton Valley, Canadá	April <i>et al.</i> 2000	
<i>Syncephalastrum</i> sp.	Zygomycota	Mucorales	SC	Emene, Nigeria	Uzoamaka <i>et al.</i> 2009	
<i>Talaromyces</i> sp.	Ascomycota	Eurotiales	SC	Utah, USA	Chosson <i>et al.</i> 1991	
<i>Talaromyces bacillisporus</i> (Swift) C.R. Benj. (1955)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993	
<i>Talaromyces flavus</i> (Klöcker) Stolk & Samson (1972), (= <i>Penicillium dangeardii</i>)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004	
<i>Talaromyces helicus</i> (Raper & Fennell) C.R. Benj. (1972), (= <i>Penicillium spirillum</i>)	Ascomycota	Eurotiales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Oudot <i>et al.</i> 1993	
<i>Trichoderma</i> sp.	Ascomycota	Hypocreales	SC	Canadá	April <i>et al.</i> 2000	
			SC	Tabasco, México	Rivera-Cruz <i>et al.</i> 2002	
			SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006	
			SC	Emene, Nigeria	Uzoamaka <i>et al.</i> 2009	
			SC	Ehime, Japón	Hadibarata y Tachibana, 2009	
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai (1969)	Ascomycota	Hypocreales	SC	La Plata, Argentina	Colombo <i>et al.</i> 1996	
			SK	Egipto	Hemida <i>et al.</i> 1993	
			SC	Arabia Saudita	Bokhary y Parvez, 1993	
<i>Trichoderma inhamatum</i> Veerkamp & W. Gams (1983)	Ascomycota	Hypocreales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007	
<i>Trichoderma viride</i> Pers. (1794) TV-1	Ascomycota	Hypocreales	LA	Lago de Asfalto de Guanoco, Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2007	
<i>Ulocladium</i> sp.	Ascomycota	Pleosporales	SC	Instalaciones	Valenzuela <i>et</i>	

				ENAP, Chile	<i>al.</i> 2006
<i>Ulocladium consortiale</i> sensu Brook, (= <i>Alternaria alternata</i>)	Ascomycota	Pleosporales	SC	Boundary Lake, Canadá	April <i>et al.</i> 2000
<i>Wallemia sebi</i> (Fr.) Arx (1970)	Basidiomycota	Wallemiales	SC	Instalaciones ENAP, Chile	Valenzuela <i>et al.</i> 2006
Levaduras					
<i>Candida lipolytica</i> (F.C. Harrison) Diddens & Lodder (1942)	Ascomycota	Saccharomycetales	D		Cerniglia y Crow, 1981
<i>Candida silvicola</i> Shifrine & Phaff (1956)	Ascomycota	Saccharomycetales	D	Brasil	Bento y Gaylarde, 2001
<i>Candida palmiophila</i> Nakase & Itoh (1988)	Ascomycota	Saccharomycetales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Candida viswanathii</i> T.S. Viswan. & H.S. Randhawa (1959)	Ascomycota	Saccharomycetales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Geotrichum</i> sp.	Ascomycota	Saccharomycetales	SC	Delta Niger, Nigeria	Benka-Coker y Ekundayo, 1997
<i>Pichia guilliermondii</i> Wick. (1966)	Ascomycota	Saccharomycetales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004
<i>Rhodotorula glutinis</i> (Fresen.) F.C. Harrison (1928)	Basidiomycota	Sporidiobolales	D	Brasil	Bento y Gaylarde, 2001
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (A. Jörg.) F.C. Harrison (1928)	Basidiomycota	Sporidiobolales	C	Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Williopsis saturnus</i> var. <i>subsufficiens</i> (Wick.) Kurtzman (1991)	Ascomycota	Saccharomycetales	C	Venezuela	Naranjo <i>et al.</i> 2008
<i>Yarrowia lipolytica</i> (Wick., Kurtzman & Herman) Van der Walt & Arx (1981)	Ascomycota	Saccharomycetales	SC	Isla Borneo, Indonesia	Chaillan <i>et al.</i> 2004

AC: agua contaminada con crudo; C: crudo; D= diesel; G: gasolina; SC: suelo contaminado con crudo; SG: suelo contaminado con gasoil; SGa: suelo contaminado con gasolina; SK: suelo contaminado con kerosene; SR: sedimento de río; LA: Lago de asfalto

3.2.2. Degradación de las fracciones SARA del crudo

El crudo es una mezcla heterogénea de compuestos orgánicos, principalmente de hidrocarburos insolubles en agua, y trazas de compuestos metálicos como sodio, níquel, hierro, vanadio o plomo (Karisen y Larter, 1991), que se puede separar en 4 grandes fracciones denominadas SARA (Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos).

La fracción de saturados está constituida por hidrocarburos que no contienen dobles enlaces y se clasifican según su estructura química en alcanos, isoprenoides y cicloalcanos. Los alcanos son cadenas de carbono que pueden estar ramificadas o no y que presentan la fórmula C_nH_{2n+2} . Se denominan isoprenoides alcanos de cadenas ramificadas mientras que los cicloalcanos son alcanos cíclicos que pueden tener uno a más anillos de átomos de carbono e hidrógeno y presentan la fórmula C_nH_{2n} (April *et al.* 1998).

La fracción de aromáticos corresponde a una clase especial de hidrocarburos insaturados; cuya estructura está basada en el anillo de benceno, el cual puede tener uno o más átomos de hidrógeno sustituidos por radicales alquilo, originando alquilo bencenos o puede haber dos o más anillos aromáticos fusionados dando como resultado los denominados HAPs (Wade, 1993).

La fracción de resinas son moléculas complejas solubles en n-heptano, las cuales contienen compuestos heterocíclicos, ácidos y sulfóxidos (Harayama *et al.* 1999). Por su parte, la fracción de asfaltenos son compuestos de alto peso molecular no solubles en n-heptano, que contienen en su estructura compuestos aromáticos y alifáticos, heteroátomos (S, O, y N) y metales pesados tales como Ni y V (Fish *et al.* 1984; Waldo *et al.* 1991; Strauz *et al.* 1992).

Zobell (1946), señaló que los hidrocarburos alifáticos, oleofinicos, aromáticos y naftalénicos son los más susceptibles a sufrir

oxidación por los microorganismos mientras que las resinas y asfaltenos son las fracciones más recalcitrantes. De esta manera, se ha reportado que la eficiencia en el proceso de remediación depende de la naturaleza de los compuestos y de su peso molecular en el siguiente orden de mayor eficiencia a menor eficiencia: Saturados > Aromáticos > Resinas > Asfaltenos (Oudot *et al.* 1993; Al-Gounaim *et al.* 1995; Li *et al.* 2002; Chaillan *et al.* 2004). En este sentido, Oudot *et al.* (1993) aislaron cepas de hongos degradadores de hidrocarburos de ambientes tropicales en Indonesia, donde identificaron miembros de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Gliocadium*, *Emericella*, *Graphium*, *Acremonium*, *Eupenicillium* y *Talaromyces*.

El potencial hidrocarbonoclastico de estas cepas se determinó monitoreando la velocidad de degradación de todas las fracciones SARA del petróleo. Las cepas más activas sobre todo el petróleo y especialmente sobre la asimilación de saturados y aromáticos fueron: *Emericella nidulans*, *Graphium putredinis*, *Eupenicillium javanicum* y *Aspergillus flavipes* con > 40% y >30%, respectivamente. Posteriormente, Al-Gounaim *et al.* (1995) aislaron de un suelo contaminado con crudo en Kuwait una cepa de *Aspergillus terreus* capaz de utilizar en 21 días 30% de crudo, 32% de los saturados y 14% de la fracción de aromáticos.

Colombo *et al.* (1996), analizaron la capacidad degradativa de 7 especies de hongos (*Aspergillus terreus*, *Fusarium solani*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium chrysogenum*, *Corioloropsis rigida*, *Trametes villosa* y *Pleurotus ostreatus*) para degradar alifáticos e hidrocarburos aromáticos en un período de 90 días. Los resultados lograron determinar que el proceso de degradación se daba en el siguiente orden: n-alcanos de bajo peso molecular > fenantreno > 3-2-metilfenantreno > n-alcanos con cadenas de longitud intermedia > n-alcanos de cadena

larga > isoprenoides. Este hecho coincidió con los resultados obtenidos por Hostettler y Kvenvolden (1994), en el derrame de petróleo de Exxon Valdez, donde el proceso de biodegradación se dio en el siguiente orden: n-alcenos de bajo peso molecular > n-alcenos de alto peso molecular > isoprenoides y, en el caso de los aromáticos: fenantreno > 3-2 metilfenantreno > 9-1 metilfenantreno.

Por otro lado, Chaillan *et al.* (2004), analizaron un cultivo de microorganismos aeróbicos degradadores de hidrocarburos aislados de suelos contaminados con petróleo en Indonesia y encontraron 21 hongos y 4 levaduras pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Amorphoteca*, *Paecilomyces*, *Talaromyces* y *Graphium* para los hongos y a los géneros *Candida*, *Yarrowia* y *Pichia* para las levaduras. Estos autores encontraron una tasa de degradación del crudo total de entre 5 y 22%, obteniéndose la máxima degradación con los hidrocarburos saturados (100%), una degradación intermedia con los hidrocarburos aromáticos (0-17%) y baja con la fracción más polar de resinas y asfaltenos (10 y 15 %, respectivamente). Así mismo, Valenzuela *et al.* (2006), utilizando espectroscopia infrarroja, determinaron fracciones del petróleo que fueron degradadas por hongos de los géneros *Absidia*, *Mortierella* y *Penicillium*, las cuales correspondían a las frecuencias 2850-1800 cm^{-1} (aldehídos, alquinos y anhídridos) y 1510-1000 cm^{-1} (alcenos saturados e insaturados, aromáticos y alquilos).

En cuanto a la capacidad degradativa de los consorcios microbianos, Li *et al.* (2002), inocularon con un consorcio de hongos (*Cunninghamella* sp., *Fusarium* sp. *Mucor* sp. y *Phanerochaete chrysosporium*) un suelo contaminado con crudo, encontrándose una degradación en el siguiente orden: hidrocarburos saturados (43-68%) > aromáticos (32-44%) > resinas y asfaltenos (10-37%).

En la Tabla 2, se presentan porcentajes de degradación reportados para las distintas fracciones SARA del crudo mediado por hongos. Cabe destacar que, tal y como ha sido reportado, la mayor tasa de degradación la presentan las fracciones de saturados y aromáticos, y la mayor capacidad degradativa la presentan las especies *Aspergillus terreus*, *Beauveria alba*, *Corioloropsis rigida*, *Fusarium solani* y *Pleurotus ostreatus*.

3.2.3. Degradación de la fracción de saturados

La fracción de saturados en el crudo está compuesta principalmente por alcenos de cadena lineal de C_1 a C_{40} , alcenos ramificados C_6 - C_8 y ciclohexanos (Stafford *et al.* 1982). En los hongos se ha demostrado que la degradación de la fracción de saturados ocurre principalmente en los alcenos lineales (n-alcenos). El uso de los n-alcenos por hongos y levaduras como única fuente de carbono y energía fue recopilado en una revisión realizada por Klug y Markovetz (1971), donde se destaca el hecho de que los alcenos simples lineales son más fáciles de degradar, seguido por los alcenos más grandes y los ramificados. Los compuestos livianos, como alquilnaftalenos y fluorenos, presentan una mayor tasa de degradación que los compuestos de mayor peso molecular, como los alquilcrisenos, por lo que se ha llegado a la conclusión de que la biodegradabilidad disminuye en la medida que se incrementa el número de sustituciones de metilos (Chaillan *et al.* 2004).

Estudios realizados con el hongo *Cladosporium resinae*, el cual fue aislado de un sistema de gasolina de avión (Jet fuel), demostraron que este hongo es capaz de utilizar como única fuente de carbono y energía alcenos lineales de C_6 a C_{19} , alcenos ramificados (C_2 metil undecano) y alcenos cíclicos (ciclohexano y ciclohexeno) (Parbery, 1971; Cofone *et al.* 1973). De igual forma, los hongos *Scedosporium* y

Graphium fueron capaces de crecer en n-alcanos en el rango de gasolina (C₅-C₉) y gas natural (C₁-C₄) y los hongos *Fusarium oxysporum*, *Graphium rubrum*, *Graphium fruticolum*, *Penicillium lilacinus* y *Petriella* sp. de crecer en alcanos más grandes de C₁₀-C₁₆ (Lowery *et al.* 1968; Llanos y Kjoller, 1976).

Por otro lado, en un experimento donde se expuso *Aspergillus versicolor* a un crudo liviano (gravedad mayor a 31,1°API), se encontró una biodegradación del 70% de los n-alcanos presentes en la muestra (Sánchez *et al.* 2006). Igualmente, *Beauveria alba* fue capaz de degradar 100% de los alcanos lineales y 90% de los alcanos ramificados (Chaîneau *et al.* 1999). La degradación de alcanos se ha demostrado para *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium chrysogenum* capaces de degradar n-alcanos (C₁₃-C₁₈) (Elshafie *et al.* 2007), *Trichoderma* sp. eicosanos (C₁₉) (Hadibarata y Tachibana, 2009), mientras, que el hongo *Pseudallescheria boydii* fue capaz de degradar alifáticos lineales generando una completa remoción de C₁₂ a C₂₁ y la remoción parcial de los C₂₂ a C₂₇, además de degradar alcanos de cadenas ramificadas (Zajic *et al.* 1969; April *et al.* 1998).

Chaillan *et al.* (2004), estudiaron la capacidad de degradación de 21 especies de hongos aislados de suelo contaminado con crudo en Indonesia, encontrando una alta tasa de degradación en la fracción de los saturados, especialmente de los n-alcanos (100%) e isoalcanos para los hongos filamentosos pertenecientes a los géneros *Amorphoteca*, *Aspergillus*, *Cunninghamella*, *Eupenicillium*, *Fusarium*, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Talaromyces*, y las levaduras *Yarrowia lipolytica*, *Candida*

viswanathii, *Candida palmioleophila* y *Pichia guilliermondii*. Por otro lado, los isoprenoides pristano y fitano (19 y 20 átomos de carbono, respectivamente) fueron ligeramente atacados por algunas cepas y completamente metabolizados por otras y, finalmente, los alcanos policíclicos se degradaron en poco menos de un 18%.

Recientemente, Hamzah *et al.* (2012) aislaron la cepa *Trichoderma virens* UKMP-1M de un suelo impactado en Malasia y encontraron que esta era capaz de degradar en 9 días n-alcanos tales como C₁₂-C₂₀ en un 13%, C₂₁-C₃₈ en 67% y los alcanos isoprenoides fitano y pristano en 74% y 100%, respectivamente. Estos autores sugieren que los n-alcanos de cadenas cortas son más tóxicos y por ende menos biodegradables, en cambio, los alcanos de cadenas de tamaños intermedios C₁₀-C₂₀ son los más biodegradables y los de cadenas largas C₂₀-C₄₀ son los menos biodegradables al ser compuestos más hidrofóbicos.

En la Tabla 2, se observa la existencia de hongos con una alta tasa degradativa de hidrocarburos saturados tales como: *Aspergillus terreus* (84%), *Corioloropsis rigida* (83%), *Pleurotus ostreatus* (82%), *Trichoderma harzianum* (82%), *Trametes villosa* (80%) y *Phanerochaete chrysosporium* (79%). En este punto, aparte de las cantidades de hidrocarburo utilizado, es importante destacar la influencia del tiempo en los resultados, ya que la mayor tasa de degradación se reporta en 90 días de exposición. Un ejemplo de ello, son los resultados reportados para *A. terreus*, *F. solani* y *T. harzianum*, donde los porcentajes de reducción de saturados a los 90 días son aproximadamente el doble que los encontrados para 30 días.

Tabla 2. Recopilación de los porcentajes de degradación de saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos por especies de hongos y consorcios, reportados en trabajos de investigación publicados en revistas registradas en las bases de datos Web of Science (1940-2010) y SciFinder Scholar (1940-2010). NR: no reportado. Consorcio Li: *Cunninghamella* sp., *Fusarium* sp. *Mucor* sp. y *Phanerochaete chrysosporium*.

Especie	Tiempo (días)	% Degradación				Referencia
		Saturados	Aromáticos	Resinas	Asfaltenos	
<i>Acremonium strictum</i>	30	42%	10%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Aspergillus flavipes</i>	21	32%	45%	13%	13%	Oudot <i>et al.</i> , 1993
<i>Aspergillus fumigatus</i>	21	22%	18%	15%	10%	Oudot <i>et al.</i> , 1993
	30	47%	11%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Aspergillus niger</i>	30	13%	15%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Aspergillus terreus</i>	21	31.8%	13.8%	NR	NR	Algounaim <i>et al.</i> , 1995
	90	84%	100%	NR	NR	Colombo <i>et al.</i> , 1996
<i>Beauveria alba</i>	30	65%	45%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Cladosporium herbarum</i>	30	26%	27%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Corioloopsis rigida</i>	90	83%	91%	NR	NR	Colombo <i>et al.</i> , 1996
<i>E. javanicum</i>	21	46%	31%	6	27%	Oudot <i>et al.</i> , 1993
<i>E. nidulans</i>	21	60%	36%	16%	40%	Oudot <i>et al.</i> , 1993
<i>Fusarium solani</i>	90	72%	100%	NR	NR	Colombo <i>et al.</i> , 1996
	30	40%	10%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>G. putredinis</i>	21	36%	37%	2%	30%	Oudot <i>et al.</i> , 1993
<i>Gongronella butleri</i>	30	5%	1%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Penicillium brevicompactum</i>	30	55%	23%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Penicillium pinophilum</i>	30	50%	10%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Penicillium restrictum</i>	30	6%	8%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Penicillium simplicissimum</i>	30	46%	38%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Phanerochaete chrysogenum</i>	90	79%	36%	NR	NR	Colombo <i>et al.</i> , 1996
<i>Pleurotus ostreatus</i>	90	82%	100%	NR	NR	Colombo <i>et al.</i> , 1996
<i>Trichoderma harzianum</i>	90	82%	100%	NR	NR	Colombo <i>et al.</i> , 1996
	30	39%	12%	-	-	Chaîneau <i>et al.</i> , 1999

<i>Trichoderma koningii</i>	30	34%	21%	-	-	Chaïneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Trichoderma polysporum</i>	30	54%	28%	-	-	Chaïneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	30	33%	24%	-	-	Chaïneau <i>et al.</i> , 1999
<i>Trametes villosa</i>	90	80%	100%	NR	NR	Colombo <i>et al.</i> , 1996
Consortio Li en crudo Liviano	56	66%	44%		38%	Li <i>et al.</i> , 2002
Consortio Li en crudo condensado	56	68%	43%		22%	Li <i>et al.</i> , 2002
Consortio Li en crudo pesado	56	43%	33%		10%	Li <i>et al.</i> , 2002
Consortio Li en crudo extrapesado	56	59%	33%		17%	Li <i>et al.</i> , 2002

En base a este hecho, se realizó un análisis de conglomerados con todos los datos recopilados para determinar la distribución de géneros de hongos según su capacidad para degradar saturados (Figura 6). El análisis de conglomerados permitió la formación de dos grupos homogéneos, un grupo de alta y otro de baja degradación, el primero formado por los géneros *Trametes*, *Phanerochaete*, *Pleurotus*, *Corioloopsis*, *Fusarium*, *Emerciella*, y *Beauveria*, con un porcentaje de degradación de 74.43 ± 3.4 %, y el segundo, formado por los géneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Graphium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Eupenicillium*, y *Acremonium* con un porcentaje de degradación de 40.09 ± 3.56 %.

En cuanto al mecanismo por el cual los hongos son capaces de degradar los hidrocarburos saturados, se ha descrito que es mediada por hidroxilación de los grupos metilos terminales de los alcanos, siendo principalmente catalizada a nivel de los microsomas por el complejo enzimático Citocromo P-450 monooxigenasa NADPH reductasa y las enzimas alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa (Prenafeta-Buldu *et al.* 2002). Se ha sugerido que ocurre una oxidación de los alcanos a alcoholes primarios y la generación de ácidos grasos vía aldehídos (Walker y Cooney, 1973). Posteriormente, se

han descrito dos vías posibles degradación primaria: a) una oxidación dimeral con la formación de ácidos dicarboxílicos y; b) la oxidación subterminal generando alcoholes secundarios. Finalmente, los ácidos grasos son incorporados a la vía catabólica por β -oxidación, produciendo CO_2 y H_2O .

3.2.4. Degradación de la fracción de aromáticos

En cuanto a la degradación de aromáticos, los más estudiados han sido los HAPs, los cuales son compuestos de origen natural o antropogénico que se encuentran en el suelo, el aire y el agua. De estos compuestos, 16 han sido considerados por la Environmental Protection Agency (EPA) como tóxicos y cancerígenos (Menzie *et al.* 1992; Nadon *et al.* 1995). Es por ello, que en la actualidad se han sumado esfuerzos en encontrar microorganismos que sean capaces de tolerar y degradar estos compuestos con fines de saneamiento ambiental. Según Cerniglia (1992), la tasa de degradación microbiana de HAPs es inversamente proporcional al número de anillos aromáticos en la molécula, por lo que los HAPs de bajo peso molecular son degradados más rápidamente que los de mayor peso molecular.

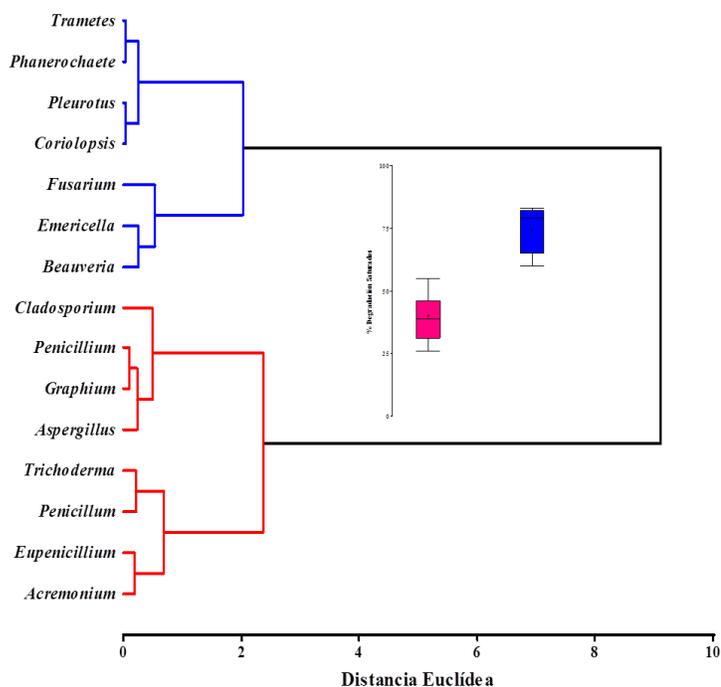


Figura 6. Representación del patrón de distribución de grupos homogéneos de géneros de hongos según su capacidad para degradar saturados, generada a través del análisis por conglomerados utilizando como algoritmo de encadenamiento el UPGMA y la distancia euclídeana entre las frecuencias observadas por género. En el lado inferior derecho se presenta la distribución del porcentaje de degradación de saturados por grupo, donde se muestra que existen diferencias significativas entre grupos de degradación ($p \leq 0.05$). Cada grupo de hongos está representado por un color (azul y rojo).

En el caso de los hongos, se ha reportado ampliamente la degradación de acenafteno, antraceno, benzo[a]antraceno, DBT, fenantreno, fluoranteno, naftaleno, pireno y benzopireno. De estos HAPs, el más comúnmente degradado es el naftaleno donde se ha reportado la mayor cantidad de especies con potencial para biodegradarlo. De hecho, Uzoamaka *et al.* (2009), describen la alta capacidad de *Aspergillus niger* y *Aspergillus versicolor* de degradar en 7 días un 99% de los siguientes HAPs: acenaftaleno, Benzo[a]antraceno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[g,h,i]perileno, Benzo[a]pireno, criseno, Di-benzo[a,h]antraceno, fenantreno, fluoranteno y pireno. Acevedo *et al.* (2011) estudiaron la degradación de HAPs de tres y cuatro anillos por *Anthracophyllum discolor*, un hongo de la podredumbre blanca aislado de la selva del sur de Chile. Los resultados obtenidos

mostraron que *A. discolor* fue capaz de degradar HAPs, removiendo 62% de fenantreno, 73% de antraceno, 54% de fluoranteno, 60% de pireno y 75% benzo[a]pireno.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, en la Tabla 2, muestran que existen diversos hongos que son capaces de degradar la fracción de aromáticos en un 100%, entre los que resaltan las especies: *Aspergillus terreus*, *Fusarium solani*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes villosa* y *Trichoderma harzianum*. Es de interés que el hongo *Coriolopsis rigida* degrada un 91% de la fracción de aromáticos, mientras que otros hongos degradan alrededor de un 50%, tales como *Aspergillus flavipes* y *Beauveria alba*. El análisis de conglomerados permitió la diferenciación de tres grupos homogéneos de hongos según su capacidad de degradar la fracción de aromáticos (Figura 7). El primer

grupo de máxima degradación formado por los géneros *Trametes*, *Pleurotus*, *Fusarium* y *Corioloopsis* con un porcentaje de degradación de $97.75 \pm 2.25\%$, el segundo grupo de degradación intermedia formado por los géneros *Graphium*, *Phanerochaete*, *Emericella*, *Trichoderma* y *Beauveria* con

un porcentaje de degradación de $39.45 \pm 1.94\%$ y un tercer grupo de mínima degradación formado por *Eupenicillium*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Acremonium* con un porcentaje de degradación de $22.11 \pm 2.96\%$ (Figura 7).

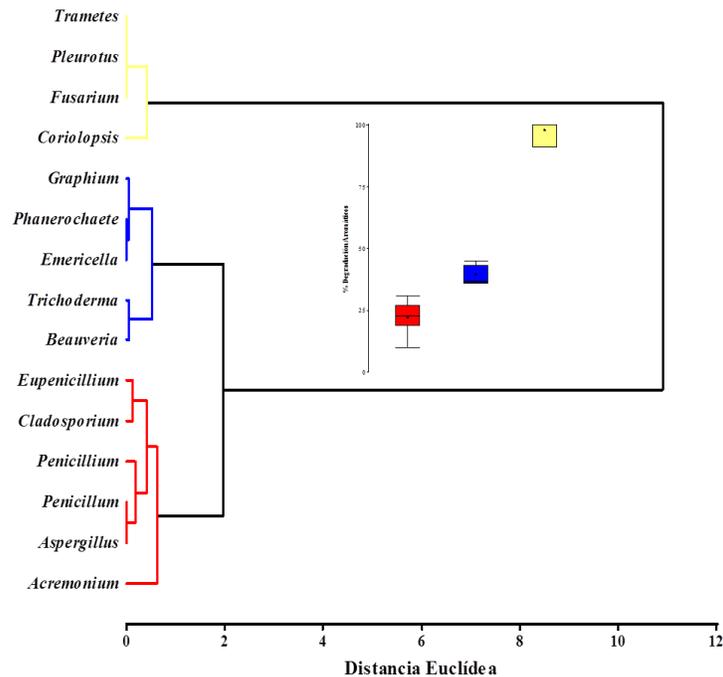


Figura 7. Representación del patrón de distribución de grupos homogéneos de géneros de hongos según su capacidad para degradar aromáticos, generada a través del análisis por conglomerados utilizando como algoritmo de encadenamiento el UPGMA y la distancia euclídea entre las frecuencias observadas por género. En el lado inferior se presenta la distribución del porcentaje de degradación de aromáticos por grupo, donde se muestra que existen diferencias significativas entre grupos de degradación ($p \leq 0.05$). Cada grupo de hongos está representado por un color (azul, rojo y amarillo).

Cabe destacar que en las Figuras 5, 6 y 7 los grupos con mayor tasa de degradación de TPH, saturados y aromáticos, están conformados por géneros del Phylum Basidiomycota -no aislados de hidrocarburos- (*Phanerochaete*, *Coriolus*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Bjerkandera*) y, de todos los hongos aislados de crudo y sus derivados, solo presentaron una alta capacidad degradativa los géneros *Beauveria*, *Emericella*=*Aspergillus* y *Fusarium*. El elemento común de estos hongos es la producción de enzimas ligninolíticas, lo que corrobora la

importancia de estas enzimas oxidativas en la capacidad degradativa de los hongos (Naranjo et al., 2007).

En cuanto a los mecanismos de degradación de aromáticos, se ha evidenciado que existen enzimas fúngicas capaces de modificar a los aromáticos por procesos de: i) oxidación, tales como citocromo P-450 y las enzimas ligninolíticas lacasa, lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa; ii) halogenación como la cloroperoxidasa o por; iii) conjugación como la Glutatión-S-transferasa (Hammel et al. 1986; Datta et al. 1994; Vázquez-Duhalt et al. 1994; Venkateswarlu

et al. 1996; Torres *et al.* 2003; Wang *et al.* 2003; Doddapaneni y Yadav, 2004; Baborová *et al.* 2006; Paskova *et al.* 2006; Ayala *et al.* 2008).

3.2.5. Degradación de resinas y asfaltenos

A fin de determinar la capacidad de los hongos para degradar resinas y asfaltenos, se recopiló la información disponible que había al respecto, encontrándose, en líneas generales, que las resinas y los asfaltenos son las fracciones más polares y recalcitrantes del crudo, menos solubles, menos biodisponibles y por ende más difíciles de ser degradadas por los microorganismos (Oudot *et al.* 1984). Sin embargo, Oudot *et al.* (1993) encontraron que los hongos *Emericella nidulans*, *Graphium putredinis*, *Eupenicillium javanicum* y *Aspergillus flavipes* son capaces de degradar dichas fracciones en un rango de 15-28 %, en el caso de las resinas, y entre 15-40% en el caso de los asfaltenos.

De igual forma, Chaillan *et al.* (2004), encontraron que los hongos *Paecilomyces variotii* y *Fusarium decemcellulare* y las levaduras *Candida palmiophila* y *Pichia guillermomdii* eran capaces de degradar resinas y asfaltenos en un rango de 10-15 %. Además, Li *et al.* (2002), en un experimento de biodegradación en biopilas, encontraron un porcentaje de degradación de asfaltenos y resinas de 9.98% y 37.35%, respectivamente, luego de 53 días de tratamiento utilizando los hongos *Cunninghamella* sp., *Fusarium* sp. y *Phanerochaete chrysosporium*. Más recientemente, Uribe *et al.* (2011), en condiciones de laboratorio, describieron la capacidad de una cepa de *Neosartorya fischeri* aislada del lago natural de asfalto de Guanoco (Edo. Sucre, Venezuela), de crecer en medio líquido utilizando asfaltenos como única fuente de carbono y energía y de mineralizar los mismos en un 13,2%. Además de ello, detectaron mediante la técnica de cromatografía de gases, los

metabolitos generados en el proceso de degradación: ácido hidroxifenilacético, carbazol 9-nitroso, ácido tianafteno 2 carboxílico y hidroxipirenodiona (Uribe *et al.* 2011).

A nivel de modificaciones moleculares, en el caso de *Trichoderma* (AB2), Bublitz *et al.* (1994), demostraron que este hongo era capaz de modificar asfaltenos haciéndolos más solubles por la incorporación de oxígeno dentro de su estructura. Por otro lado, Hofrichter *et al.* (1997) encontraron la formación de bifenilo-2-ol (2 hidroxibifenilo) al exponer asfaltenos al hongo *Coprinus sclerotigenis*. Estos autores también estudiaron la capacidad degradativa de asfaltenos por el hongo *Panus triguinus* mediante CG, encontrando una reducción en el porcentaje de asfaltenos de pesos moleculares comprendidos entre 400 y 300 kDa concomitante aparición de nuevos compuestos de 100 kDa a los 28-42 días de haber iniciado el experimento (Hofrichter *et al.* 1997).

En cuanto al mecanismo utilizado por los hongos para degradar estas fracciones recalcitrantes, existen evidencias de que algunas enzimas fúngicas son capaces de modificar los asfaltenos. Tal es el caso de la enzima cloroperoxidasa del hongo *Caldariomyces fumago* la cual es capaz de transformar las petroporfirinas permitiendo remover los metales pesados Ni y V de los asfaltenos (Fedorak *et al.* 1993). Estos autores encontraron una reducción del 93% de Ni en níquel octaetilporfina, 53% de V en vanadil octaetilporfina y 20% del Ni y V de la fracción de asfaltenos luego de la exposición a la cloroperoxidasa (Fedorak *et al.* 1993). Igualmente, Mogollón *et al.* (1998), encontraron una reducción de 53% y 27% del Ni y V totales de una fracción rica en porfirinas y asfaltenos expuesta a esta enzima.

3.3 Evidencias de degradación de derivados del crudo (gasolina, diesel y kerosén) por hongos

Existen diversas evidencias de que los hongos son capaces de degradar gasolina, diesel y kerosén. Adekunle y Oluyode (2005), aislaron hongos de semillas de melón y soya y probaron su capacidad para degradar crudo y sus derivados, encontrando que la especie *Botryodiplodia theobromae* tenía la mayor capacidad de degradar crudo, *Aspergillus flavus* de degradar diesel y *Macrophomina phaseolina* de degradar kerosén. Igualmente, Salmanov *et al.* (2008), demostraron que los hongos *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* y *Fusarium* eran capaces de utilizar activamente crudo, diesel y kerosén como fuente de carbono y energía. Por otro lado, Saratale *et al.* (2007), reportaron que el hongo *Aspergillus ochraceus* demostró ser capaz de reducir el TPH del kerosén en un 84%. Además de ello, demostraron por espectroscopia FT-IR que éste era capaz de generar cambios en tan solo 4 días de exposición, observándose la aparición de bandas a 2749 cm^{-1} , 2729 cm^{-1} y la aparición de 7 bandas entre $794\text{--}1402\text{ cm}^{-1}$, que indican la formación de aldehídos alifáticos y aromáticos que son productos de degradación del kerosén.

En cuanto a la degradación de diesel, Li *et al.* (2008), estudiaron la degradación de este hidrocarburo mediado por la bacteria *Mycobacterium hyalinum*, el hongo *Cladosporium* y por un consorcio utilizando los dos microorganismos anteriores. Para ello, expusieron durante 5 días los microorganismos al diesel y, mediante CG, determinaron que hubo una degradación de 21% para el caso de *M. hyalinum*, de 34% para *Cladosporium*. Sin embargo, observaron una degradación de un 99% al utilizar el consorcio microbiano (*Mycobacterium-Cladosporium*). Estos autores sugieren que el hongo *Cladosporium* es capaz de degradar tanto los hidrocarburos alifáticos como los aromáticos en el diesel,

facilitando, al reducir el contenido de aromáticos, el crecimiento de la bacteria, la cual, a su vez, acelera el proceso de degradación de los saturados, promoviendo finalmente la degradación de aromáticos por el hongo.

4. Conclusiones

- El meta-análisis realizado con la información reportada en los trabajos de investigación publicados en las bases de datos Web of Science y SciFinder Scholar muestra que del total de hongos aislados de crudo, sus derivados y sustratos impactados corresponden a los Phyla: Ascomycota (83%), Zygomycota (10%), Glomeromycota (6%) y Basidiomycota (1%), siendo este último el de mayor capacidad degradativa.
- Los géneros de mayor frecuencia de aislamiento en hidrocarburos fueron *Penicillium* (18%), *Aspergillus* (17%) y *Fusarium* (6%), siendo *Penicillium* el hongo más cosmopolita ya que fue aislado de todos los sustratos impactados con hidrocarburos.
- En función del porcentaje de degradación de TPH, el grupo reportado que presentó mayor degradación fue el formado por los géneros *Phanerochaete*, *Coriolus*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Bjerkandera*, *Rhizopus*, *Emerciella* y *Aspergillus*.
- Con respecto a las fracciones de saturados, los géneros con mayor capacidad degradativa fueron: *Phanerochaete*, *Coriolopsis*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Emerciella*, *Fusarium* y *Beauveria*.
- Con respecto a las fracciones de aromáticos, los géneros con mayor capacidad degradativa fueron: *Trametes*, *Pleurotus*, *Fusarium* y *Coriolopsis*.

- En la literatura, solo existen evidencias de degradación de resinas y los asfaltenos por los géneros *Aspergillus*, *Candida*, *Emericella*, *Eupenicillium*, *Fusarium*, *Graphium*, *Neosartorya*, *Paecilomyces* y *Pichia*.

5. Reconocimientos

El presente trabajo de investigación fue financiado con fondos compartidos de los Proyectos IDI: i) Desarrollo de una tecnología de biorremediación para el tratamiento de derrames de crudo extra pesado y de fosas petrolíferas asociadas a la producción de crudos extra pesados, FONACIT No. G-2005000440 (IDEA); ii) Desarrollo, evaluación y validación de nuevos procesos verdes orientados al saneamiento de pasivos ambientales generados por la industria petrolera. Sub-Proyecto 3: MISIÓN CIENCIA No. 2007001401 (IDEA) e; iii) Inducción de la conversión enzimática parcial de asfaltenos mediante exoenzimas oxidativas, como propuesta innovadora para el mejoramiento de crudos extra-pesados de la Faja Petrolífera del Orinoco. FONACIT No. G-2011000330.

6. Referencias

- Acevedo, F., Pizzul, L., Castillo, M.D., González, M.E., Cea, M., Gianfreda, L., Diez, M.C. 2010. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by free and nanoclay-immobilized manganese peroxidase from *Anthracophyllum discolor*. *Chemosphere* 80(3): 271-8.
- Adekunle, A.A., Oluyode, T.F. 2005. Biodegradation of crude petroleum and petroleum products by fungi isolated from two oil seeds (melon and soybean). *J Environ Biol* 26(1): 37-42.
- Adenipekun, C.O., Fasidi, I.O. 2005. Bioremediation of oil-polluted soil by *Lentinus subnudus* a Nigerian white-rot fungus. *Afr J Biotechnol* 4(8): 796-798.
- AlGounaim, M.Y., Diab, A., AlAbdulla, R., Al Zamin, N. 1995. Effect of petroleum oil pollution on the microbiological populations of the desert soil of Kuwait. *Arab Gulf J Sci Res* 133: 653-672.
- Al-Nasrawi, H. A. 2012. Biodegradation of crude oil by fungi isolated from Gulf of Mexico. *J Bioremed Biodegrad* 03(04). doi:10.4172/2155-6199.1000147.
- Amund, O., Adebowale, A.A., Ugoji, E.O. 1987. Occurrence and characteristics of hydrocarbon-utilizing bacteria in Nigerian soils contaminated with spent motor oil. *Indian J Microbiol* 27: 63-67.
- April, T. M., Abbott, S.P., Foght, J.M., Currah, R.S. 1998. Degradation of hydrocarbons in crude oil by the ascomycete *Pseudallescheria boydii* Microascaceae. *Can J Microbiol* 44: 270-278.
- April, T.M., Foght, J.M., Currah, R.S. 2000. Hydrocarbon-degrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in northern and western Canada. *Can J Microbiol* 46: 38-49.
- Atlas, R.M., Bartha, R. 1972. Degradation and mineralization of petroleum by two bacteria isolated from coastal waters. *Biotechnol Bioeng* 14: 297-308.
- Ayala, M., Robledo, N.R., Lopez-Munguia, A., Vazquez-Duhalt, R. 2000. Substrate specificity and ionization potential in chloroperoxidase-catalyzed oxidation of diesel fuel. *Environ Sci Technol* 34(13): 2804-2809.
- Baborová, P., Möder, M., Baldrian, P., Cajthamlová, K., Cajthaml, T. 2006. Purification of a new manganese peroxidase of the white-rot fungus *Irpex lacteus* and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the enzyme. *Res Microbiol* 157: 248-253.
- Bartha, R., Atlas, R.M. 1977. The microbiology of aquatic oil spills. *Adv Appl Microbiol* 22: 225-226.

- Benka-Coker, M.O., Ekundayo, J.A. 1997. Applicability of evaluating the ability of microbes isolated from an oil spill site to degrade oil. *Environ Monit Assess* 453: 259-272.
- Bento, F.M., Gaylarde, C.C. 2001. Biodeterioration of stored diesel oil: Studies in Brazil. *Int Biodeter Biodegr* 47: 107-112.
- Bohary, H.A., Parvez, S. 1993. Fungi from petroleum-contaminated Saudi-arabian soils. *Arid Soil Res Rehab* 72: 191-195.
- Bublitz, F., Gfinther, T., Fritsche, W. 1994. Screening of fungi for the biological modification of hard coal and coal derivatives. *Fuel Process Technol* 40: 347-354.
- Cabello, M.N. 1999. Effectiveness of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi AMF isolated from hydrocarbon polluted soils. *J Basic Microb* 39: 89-95.
- Calomiris, J.J., Austin, B., Walker, J.D., Colwell, R.R. 1986. Enrichment for estuarine petroleum-degrading bacteria using liquid and solid media. *J Appl Bacteriol* 42: 135-144.
- Cerniglia, C.E., Crow, S.A. 1981. Metabolism of aromatic hydrocarbons by yeast. *Arch Microbiol* 129: 9-13.
- Cerniglia, C.E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation* 3: 351-368.
- Chaillan, F., Flèche, A.L., Bury, E., Phantavong, Y., Grimont, P., Saliot, A., Oudot, J. 2004. Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms. *Res Microbiol* 155: 587-595.
- Chaineau, C.H., Morel, J., Dupont, J., Bury, E., Oudot, J. 1999. Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil. *Sci Total Environ* 227: 237-247.
- Chiu, S.W., Gao, T., Sze-Sze, C., Kar-Man, C. 2009. Removal of spilled petroleum in industrial soils by spent compost of mushroom *Pleurotus pulmonarius*. *Chemosphere* 75: 837-842.
- Chosson, P., Lanau, C., Connan, J., Dessort, D. 1991. Biodegradation of refractory hydrocarbon biomarkers from petroleum under laboratory conditions. *Nature* 351: 640-642.
- Cofone, L., Walker J.D., Cooney, J.J. 1973. Utilization of hydrocarbons by *Cladosporium resinae*. *J Gen Microbiol* 76: 243-246.
- Colombo, J.C., Cabello, M., Arambarri, A.M. 1996. Biodegradation of aliphatic and aromatics hydrocarbons by natural soil microflora and pure cultures of imperfect and lignolitic fungi. *Environ Pollut* 94: 355-362.
- Colwell, R.R., Walker, J. D. 1977. Ecological aspects of microbial degradation of petroleum in the marine environment. *Crit Rev Microbiol* 5: 423-445.
- Datta, J., Dutta, T.K., Samanta, T.B. 1994. Microsomal glutathione S transferase GST isozymes in *Aspergillus ochraceus* TS: induction by 3-methylcholanthrene. *Biochem Bioph Res Co* 203: 1508-1514.
- Davies, J.S., Westlake D.W.S. 1978. Crude oil utilization by fungi. *Can J Microb* 25: 146-156.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M., Robledo, C.W. 2010. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat FCA Universidad Nacional de Córdoba Argentina.
- Domch, K.H., Gams, W., Anderson, T. 1993. Compendium of soil Fungi. IHW-Verlag, 1264p.
- Doddapaneni, H., Yadav J.S. 2004. Differential regulation and xenobiotic induction of tandem P450 monooxygenase genes pc-1 CYP63A1 and pc-2 CYP63A2 in the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Microbiol Biotechnol* 65: 559-565.

- Elshafie, A., Yahya, A., Al-Busaidi, S., Bakheit, C., Albahry, S.N. 2007. Biodegradation of crude oil and n-alkanes by fungi isolated from Oman. *Mar Pollut Bull* 54: 1692-1696.
- Farag, S., Soliman, N.A. 2011. Biodegradation of crude petroleum oil and environmental pollutants by *Candida tropicalis* Strain. *Braz Arch Biol Techn* 54: 821-830.
- Fedorak, P.M., Semple, K.M., Vazquez-Duhalt, R., Westlake, D.W.S. 1993. Chloroperoxidase-mediated modifications of petroporphyrins and asphaltenes. *Enzyme Microb Tech* 15: 429-437.
- Fish, R.H., Komlenic, J.J., Wines, B.K. 1984. Characterization and comparison of vanadyl and nickel compounds in heavy crude petroleum and asphaltenes by reverse-phase and size-exclusion liquid chromatography/graphite furnace atomic absorption. *Anal Chem* 56: 2452-2460.
- Franco-Ramírez, A., Ferrera-Cerrato, R., Varela-Fregoso, L., Pérez-Moreno, J., Alarcón, A. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi in chronically petroleum-contaminated soils in Mexico and the effects of petroleum hydrocarbons on spore germination. *J Basic Microb* 47: 378-383.
- Gaylarde, C.C., Bento, F.M., Kelley, J. 1999. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control. *Rev Microbiol* 30: 1-10.
- Gesinde, A.F., Agbo, E.B., Agho, M.O., Dike, E.F.C. 2008. Bioremediation of some Nigerian and Arabian crude oils by fungal isolates. *Int J Appl Sci* 23: 37-44.
- Hadibarata, T., Tachibana, S. 2009. Microbial degradation of n-eicosane by filamentous fungi. *Interdiscipl Studies Environ Chem* 323-329.
- Hammel, K.E., Kalyanaraman, B., Kirk, T.K. 1986. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons and dibenzo[p]dioxins by *Phanerochaete chrysosporium*. *J Biol Chem* 261: 16948-16952.
- Hamzah, A., Zarin, M.A., Hamid, A.A., Omar, O., Senafi, S. 2012. Optimal physical and nutrient parameters for growth of *Trichoderma virens* UKMP-1M for heavy crude oil degradation. *Sains Malaysiana* 41(1): 71-79.
- Harayama, S., Kishira, H., Kasai, Y., Shutsubo, K. 1999. Petroleum biodegradation in marine environments. *J Mol Microb Biotech* 11: 63-70.
- Hashem, A.R. 1995. Soil analyses and microflora of the Jubail Industrial City in Saudi Arabia. *J Univ Kuwait Sci* 22: 231-237.
- Hemida, S.K., Bagy, M.M.K., Khallil, A.M. 1993. Utilization of hydrocarbons by fungi. *Cryptogamie Mycol* 143: 207-213.
- Hettige, G., Sheridan, J.E. 1984. Mycoflora of stored diesel fuel in New Zealand. *Int biodeterior* 20: 225-227.
- Hofrichter, M., Bublitz, F., Fritsche, W. 1997. Fungal attack on coal: I Modification of hard coal by fungi. *Fuel Process Technol* 52: 43-53.
- Hostettler, F.D., Kvenvolden, K.A. 1994. Geochemical changes in crude oil spilled from the Exxon Valdez supertanker into Prince William Sound Alaska. *Org Geochem* 21(8/9): 927-936.
- Hyde, K., Bussaban, B., Paulus, B., Crous, P., Lee, S., McKenzie, E., Photita, W., Lumyong, S. 2007. Diversity of saprobic microfungi. *Biodiver Conserv* 16(1): 7-35.
- Ifeanyichukwu, H. 1996. Microbiological profile of crude oil in storage tanks. *Environ Monit Assess* 41: 301-308.
- Karlsen, D.A., Larter, S.R. 1991. Larter Analysis of petroleum fractions by TLC-FID: applications to petroleum reservoir description. *Org Geochem* 175: 603-617.
- Klug, M.J., Markovetz, A.J. 1971. Utilization of aliphatic hydrocarbons by microorganisms. *Adv Microb Physiol* 5: 1-43.
- Kristanti, R.A. 2011. Bioremediation of crude oil by white rot fungi *Polyporus* sp. S133. *J Microbiol Biotechn* 21(9): 995-1000.
- Li, C., Yu, C., Liang, C., Wuling, C. 2009. Study of fungi-bacteria augmented remediation of

- petroleum contaminated soil from Northwest China. *J Food Agric Environ* 73(4): 750-753.
- Li, P., Sun, T., Stagnitti, F., Zhang, C., Zhang, H., Xiong, X., Allinson, G., Ma, X., Allinson, M. 2002. Field-Scale bioremediation of soil contaminated with crude oil. *Environ Eng Sci* 195: 277-289.
- Li, Y.Q., Liu, H.F., Tian, Z.L., Zhu, L.H., Wu, Y.H., Tang, H.Q. 2008. Diesel pollution biodegradation: Synergetic effect of mycobacterium and filamentous fungi. *Biomed Environ Sci* 21: 181-187.
- Llanos, C., Kjoller, A. 1976. Changes in the flora of soil fungi following waste application. *Oikos* 27: 377-382.
- Lowery, C.E., Foster, J.W., Jurtschuk, P. 1968. The growth of various filamentous fungi and yeasts on n-alkanes and ketones I. Studies on substrate specificity. *Arch Microbiol* 60: 246-254.
- Mancera-López, M., Espaza-García, F., Chavez-Gomez, B., Rodríguez-Vázquez, R., Saucedo-Castaneda, G., Barrera-Cortes, J. 2008. Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with filamentous fungi. *Int Biodeter Biodegr* 612: 151-160.
- Menzie, C.A., Potocki, B.B., Santodonato, J. 1992. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environ Sci Technol* 26: 1278-1284.
- Meysami, P., Baheri, H. 2003. Pre-screening of fungi and bulking agents for contaminated soil bioremediation. *Adv Environ Res* 7: 881-887.
- Mogollon, L., Rodríguez, R., Larrota, W., Ortiz C., Torres, R. 1998. Biocatalytic removal of nickel and vanadium from petroporphyrins and asphaltenes. *Appl Biochem Biotechnol* 70-72: 765-767.
- Moreno, C.M., González, A., Blanco, M.J. 2004. Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos Aplicaciones de los hongos en tratamientos de biorrecuperación. *Rev Iberoam Micol* 21: 103-120.
- Nadon, L., Siemiatycki, J., Dewar, R., Krewski, D., Guerin, M. 1995. Cancer risk due to occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Am J Ind Med* 28: 303-324.
- Naranjo, L., Urbina, H., De Sisto, A., Leon, V. 2007. Isolation of autochthonous non-white rot fungi with potential for enzymatic upgrading of Venezuelan extra-heavy crude oil. *Biocatal Biotransfor* 25: 1-9.
- Naranjo, L., Urbina, H., González, M., Córdova, J., Muñoz, S., León, V. 2008. Potential of autochthonous non-white rot fungi for partial enzymatic conversion PEC-IDEA Technology of Venezuelan extra-heavy crude oil. *Proceeding of the 6th International Symposium on Fuels and Lubricants*. New Delhi, India Paper No 128.
- Nkwelang, G., Kamga, H.F.L., Nkeg, G.E., Antai, S.P. 2008. Studies on the diversity abundance and succession of hydrocarbon utilizing micro organisms in tropical soil polluted with oily sludge. *Afr J Biotechnol* 7(8): 1075-1080.
- Nyns, E.J., Aquiere, J.P., Wiaux, A.L. 1968. Taxonomic value of the property of fungi to assimilate hydrocarbons. *Antonie van Leeuwenhoek* 34: 441-457.
- Obire, O. 1993. The Suitability of Various Nigerian Petroleum Fractions as Substrate for Bacterial Growth. *Discov Innovat* 5: 45-49.
- Oboh, B.O., Ilori, M. O., Akinyemi, J. O., Adebusoye, S. A. 2006. Hydrocarbon Degrading Potentials of Bacteria Isolated from a Nigerian Bitumen. *Nat Sci* 4(3): 51-57.
- Obuekwe, C.O., Badrudeen, A.M., Al-Saleh, E., Mulder, J.L. 2005. Growth and hydrocarbon degradation by tree desert fungi under conditions of simultaneous temperature and salt stress. *Int Biodeter Biodegr* 56: 197-205.

- Odukwuma, L.O., Okpokwasili, G.C. 1992. Role of Composition on Biodegradability of Oil Spill Dispersants. *Waste Manage* 12: 39–43.
- Okerentugba, P.O., Ezeronye, O.U. 2003. Petroleum degrading potentials of single microbial cultures isolated from rivers and effluent in Nigeria. *Afr J Biotechnol* 2(9): 288-292.
- Oudot, J. 1984. Rates of microbial degradation of petroleum components as determined by computerized capillary gas-chromatography and computerized mass-spectrometry. *Mar Environ Res* 13: 277-302.
- Oudot, J.P., Fusey, P., Abdelouahid, D.E., Haloulet, S., Roquebert, M.F. 1987. Capacités dégradatives de bactéries et de champignons isolés d'un sol contaminé par un fuel. *Can J Microbiol* 33: 232–243.
- Oudot, J.P., Dupont, J., Haloui, S., Roquebert, M.F. 1993. Biodegradation potential of hydrocarbon-degrading fungi in tropical soil. *Soil Biol Biochem* 25: 1167-1173.
- Parbery, D.G. 1971. Biological problems in jet aviation fuel and the biology of *Amorphotheca resinae*. *Material und Organismen* 6: 1161-1208.
- Paskova, V., Hilscherova, R.A., Feldmannova, M., Blaha, L. 2006. Toxic effects and oxidative stress in higher plants exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and their n-heterocyclic derivatives. *Environ Toxicol Chem* 25: 3238–3245.
- Prenafeta-Boldu, F.X., Vervoort, J., Grotenhuis, J.T.C., van Groenestijn, J.W. 2002. Substrate interactions during the biodegradation of benzene toluene ethylbenzene and xylene BTEX hydrocarbons by the fungus *Cladophialophora* sp Strain T1. *Appl Environ Microbiol* 68: 2660–2665.
- Radwan, S.S., Sorkhoh, N.A., Fardoun, F., Hasan, R.H. 1995. Soil management enhancing hydrocarbon biodegradation in the polluted Kuwaiti desert. *Appl Microbiol Biotechnol* 44: 265-270.
- Rivera-Cruz, M.C., Ferrera-Cerrato, R., Volke-Haller, V., Fernández-Linares L., Rodríguez-Vázquez, R. 2002. Poblaciones microbianas en perfiles de suelos afectados por hidrocarburos del petróleo en el Estado de Tabasco México. *Agrociencia* 36: 149-159.
- Salmanov, M., Aliyeva, S., Veliyev, M., Bekrashi, N. 2008. The study of degradation ability of oil products and oil hydrocarbons by microscopic fungi isolated from polluted coastal areas of Absheron Peninsula of Caspian sea. *Ekoloji* 1768: 59-64.
- Sánchez, O., Ferrera, I., Vignes, N., Garcia, T., Grimalt, J.O., Mas, J. 2006. Presence of opportunistic oil-degradating microorganism operating at the initial steps of oil extraction and handling. *Int Microbiol* 9: 119-124.
- Saparrat, M.C., Martínez, M.J., Cabello, M., Arambarri, A. 2002. Screening for lignolytic enzymes in autochthonous fungal strain from Argentina isolated from different substrata. *Rev Iberoam Micol* 19: 181-185.
- Saratale, G., Kalme, S., Bhosale, S., Govindwar, S. 2007. Biodegradation of kerosene by *Aspergillus ochraceus*. *J Basic Microb* 47: 400–405.
- Sebiomo, A., Bankole, S.A., Awosanya, A.O. 2010. Determination of the ability of microorganisms isolated from mechanic soil to utilise lubricating oil as carbon source. *Afr J Microbiol Res* 4(21): 2257-2264.
- Shearer, C.A., Descals, E., Kohlmeyer, B., Kohlmeyer, J., Marvanová, L., Padgett, D., Porter, D., Raja, H.A., Schmitt, J.P., Thornton, H.A., Voglmayr, H. 2007. Fungal biodiversity in aquatic habitats. *Biodivers Conserv* 16: 49–67.
- Raja, H.A., Schmit, J.P., Thornton, H.A., Voglmayr, H. 2007. Fungal biodiversity in aquatic habitats. *Biodivers Conserv* 16(1): 49-67.

- Silva-Jiménez, H., Zazueta-Novoa, V., Durón-Castellanos, A., Rodríguez-Robelo, C., Leal-Morales, C.A., Zazueta-Sandoval, R. 2009. Intracellular distribution of fatty alcohol oxidase activity in *Mucor circinelloides* YR-1 isolated from petroleum contaminated soils. *Antonie van Leeuwenhoek* 96:527–535.
- Snellman, R.P., Collins, P., Cooke, J.C. 1988. Utilization of fuel oils by fungi isolated from oceanic tar balls. *Lett Appl Microbiol* 6: 105-107.
- Stafford, S., Berwick, P., Hughes, D.E., Stafford, D.A. 1982. Oil degradation in hydrocarbons and oil stressed environments. In: Burns R G, Sater J H (Ed.). *Experimental Microbial Ecology*. Blackwell Scientific, London UK, pp. 591–612.
- Strauz, O.P., Mojelsky, T.W., Lown, E.M. 1992. The molecular structure of asphaltenes: an unfolding story. *Fuel* 71: 1355-1363.
- Torres, E., Bustos-Jaimes, I., Le Borgne, S. 2003. Potential use of oxidative enzymes for the detoxification of organic pollutants. *Appl Catal B-Environ* 46: 1–15.
- Uribe-Alvarez, C., Ayala, M., Perezgasga, L., Naranjo, L., Urbina, H., Vázquez-Duhalt, R. 2011. First evidence of mineralization of petroleum asphaltenes by a strain of *Aspergillus* sp. *Microb Biotechnol* 4(5): 663–672.
- Uzoamaka, G.O., Floretta, T., Florence, M.O. 2009. Hydrocarbon Degradation Potentials of Indigenous Fungal Isolates from Petroleum Contaminated Soils. *J Nat & Phys Sc* 31: 1-6.
- Valenzuela, E., Solis, L., Martínez, O., Pinochet, D. 2006. Hongos aislados desde suelos contaminados con petróleo. *Boletín Micológico* 21: 35-41.
- Vázquez-Duhalt, R., Westlake, D.W.S., Fedorak, P.M. 1994. Lignin peroxidase oxidation of aromatic compounds in systems containing organic solvents. *Appl Environ Microbiol* 60: 459-466.
- Venkateswarlu, K., Marsh, R.M., Faber, B., Kelly, S.L. 1996. Investigation of cytochrome P450 mediated benzo(a)pyrene hydroxylation in *Aspergillus fumigatus*. *J Chem Technol Biotechnol* 66: 139-144.
- Vera, G., Tam, J., Pinto, E. 2009. Efectos ecotoxicológicos del petróleo crudo, diesel 2 y kerosene sobre el crecimiento poblacional de la microalga *Chaetoceros gracilis* Schutt. *Ecol Apl* 8(1): 1-7.
- Wade, L.G. 1993. *Química Orgánica* (2da ed.). Prentice Hall Inc, México 1312p.
- Waldo, G.S., Carlson, R.M.K., Moldowan, J.M., Peters, K.E., Penner-Hahn, J.E. 1991. Sulfur speciation in heavy petroleum: Information from X-ray absorption near-edge structure. *Geochim Cosmochim Acta* 55: 801-814.
- Walker, J.D., Cooney, J.J. 1973. Pathway of n-alkane oxidation in *Cladosporium resinae*. *J Bacteriol* 1152: 635-639.
- Wang, Y., Vazquez-Duhalt, R., Michael, A., Pickard, M.A. 2003. Manganese-lignin peroxidase hybrid from *Bjerkandera adusta* oxidizes polyaromatic hydrocarbons more actively in the absence of manganese. *Can J Microbiol* 49: 675-682.
- Wang, H.Y., Guo, S.Y., Huang, M.R., Lumbsch, H.T., Wei, J.C. 2010. Ascomycota has a faster evolutionary rate and higher species diversity than Basidiomycota. *Science China Life Sciences* 53 (10): 1163-1169.
- Wemede, S.A., Obire, O., Dogubo, D.A. 2002. Myco-flora of a kerosene-polluted soil in Nigeria. *J Appl Sci Environ Manag* 6: 14–17.
- Yateem, A., Balba, M.T., Al-Awadhi, N., ElNawawy, A.S. 1998. White rot fungi and their role in remediating oil-contaminated soil. *Environ Int* 24(2): 181–187.
- Zajic, J., Volesky, E., Wellman, A. 1969. Growth of *Graphium* sp on natural gas. *Can J Microbiol* 15: 1231-1236.
- ZoBell, C.E. 1946. Action of microorganism on hydrocarbons. *Bacteriol Rev* 10: 1-49.