Tesis de Licenciatura de Cs. Biológicas:

Bioprospección enzimática y perfil de ácidos grasos de cepas de *Oudemansiella canarii* de tres ecorregiones de la Argentina.

Tesista: María Josefina Codina.

Director: Dr. Bernardo Lechner.

Codirectora: Dra. Valeria Pilar Careaga.

Directora asistente: Lic. Josefina Caso.

Lugar de trabajo: Laboratorio 7, 4to piso, Ciudad Universitaria, Instituto de Micología y Botánica (InMiBo).

Mayo 2025

Resumen

La presente tesis de licenciatura se centró en la bioprospección enzimática y el análisis del perfil de ácidos grasos de diez cepas del hongo comestible *Oudemansiella canarii* provenientes de tres ecorregiones de la Argentina: Yungas, Selva Paranaense y Pampa. El objetivo general fue caracterizar cualitativamente las actividades enzimáticas de interés biotecnológico y analizar el perfil de ácidos grasos presente en el micelio de estas cepas cultivadas en medio líquido.

Para la caracterización enzimática, se realizaron ensayos cualitativos en medios de cultivo específicos para la detección de lacasa, manganeso peroxidasa, lignin peroxidasa y fosfolipasa. Se evaluó el crecimiento micelial y la presencia de halos de actividad enzimática a lo largo del tiempo. Para el perfil de ácidos grasos, se seleccionaron cinco cepas representativas de cada ecorregión y se cultivaron en medio líquido estático. Se obtuvieron curvas de crecimiento y se extrajeron los lípidos del micelio liofilizado, los cuales fueron derivatizados a ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMEs) y analizados por cromatografía gaseosa (CG-FID) en tres tiempos diferentes.

Los resultados revelaron la presencia de actividad lacasa en todas las cepas. La actividad de manganeso peroxidasa y lignin peroxidasa se observó en la mayoría de las cepas, con variaciones en la intensidad y el tiempo de aparición. La actividad fosfolipasa fue menos homogénea entre las cepas. El análisis del perfil de ácidos grasos del micelio mostró la presencia de ácido linoleico (C18:2), ácido laúrico (C12:0) y ácido palmítico (C16:0) como los más abundantes en los tres tiempos evaluados. Se observaron diferencias en la proporción de los ácidos grasos entre las cepas a lo largo del tiempo.

En conclusión, este estudio permitió identificar cepas de *O. canarii* con potencial biotecnológico debido a su actividad enzimática. Además, se reporta por primera vez un perfil detallado de ácidos grasos del micelio de esta especie, lo que abre nuevas perspectivas para la valorización de la biomasa micelial. La caracterización de la diversidad enzimática y lipídica de las cepas analizadas proporciona una base para futuras investigaciones cuantitativas y la optimización de su uso en aplicaciones industriales y ambientales.

Título en Inglés: **Enzymatic bioprospecting and fatty acid profile of *Oudemansiella canarii* strains from three Argentine ecoregions.**

Abstract: This undergraduate thesis focused on the enzymatic bioprospecting and fatty acid profile analysis of ten strains of the edible mushroom *Oudemansiella canarii* from three Argentine ecoregions: Yungas, Selva Paranaense, and Pampa. The main objective was to qualitatively characterize biotechnologically relevant enzymatic activities and to analyze the fatty acid profile present in the mycelium of these strains cultivated in liquid medium.

For the enzymatic characterization, qualitative assays were performed using specific culture media to detect laccase, manganese peroxidase, lignin peroxidase, and phospholipase activities. Mycelial growth and the presence of enzymatic activity halos were evaluated over time. For the fatty acid profile analysis, five representative strains from each ecoregion were selected and cultivated in static liquid medium. Growth curves were obtained, and lipids were extracted from lyophilized mycelium, derivatized to fatty acid methyl esters (FAMEs), and analyzed by gas chromatography (GC-FID) at three different time points.

The results revealed the presence of laccase activity in all strains. Manganese peroxidase and lignin peroxidase activities were observed in most strains, with variations in intensity and onset time. Phospholipase activity was less consistent among the strains. The analysis of the mycelial fatty acid profile showed linoleic acid (C18:2), lauric acid (C12:0), and palmitic acid (C16:0) as the most abundant at all evaluated times. Differences in fatty acid proportions among strains and over time were also observed.

In conclusion, this study identified *O. canarii* strains with biotechnological potential based on their enzymatic activities. Furthermore, it reports for the first time a detailed fatty acid profile of the mycelium of this species, opening new prospects for the valorization of mycelial biomass. The characterization of the enzymatic and lipid diversity of the analyzed strains provides a foundation for future quantitative research and the optimization of their use in industrial and environmental applications.

Índice:

Resumen.....**1**
1. Introducción.....**4**
1.1. Orden Agaricales.....4
1.2. Género *Oudemansiella*.....7
1.3. *Oudemansiella canarii*.....7
1.4. Ecorregiones de la Argentina.....10
1.5. Crecimiento de los hongos y metabolismo.....11
1.6. Enzimas fúngicas y usos biotecnológicos.....12
1.7. Importancia de los ácidos grasos en la salud humana, perfil nutricional de los hongos comestibles y de *O. canarii*.....14
1.8. Objetivos generales.....18
1.9. Objetivos específicos.....18
1.10. Hipótesis.....18
2. Materiales y métodos.....**19**
2.1. Listado de cepas y origen.....**19**
2.2. Medios de cultivo para la caracterización enzimática cualitativa.....**19**
2.2.1. Actividad lacasa.....20
2.2.2. Actividad manganeso peroxidasa.....20
2.2.3. Actividad lignin peroxidasa y actividad ligninolítica general.....20
2.2.4. Actividad fosfolipasa.....20
2.2.5. Análisis estadístico.....21
2.3. Perfil de ácidos grasos.....**21**
2.3.1. Curvas de crecimiento.....21
2.3.2. Obtención de micelio fresco para la extracción de ácidos grasos.....22
2.3.3. Extracción de lípidos y derivatización de ácidos grasos del micelio liofilizado.....22
2.3.4. Análisis estadístico.....23
3. Resultados y discusión.....**24**
3.1. Análisis cualitativo de enzimas.....**24**
3.1.1. Lacasa.....24
3.1.2. Manganeso peroxidasa.....27
3.1.3. Lignin peroxidasa.....30
3.1.4. Fosfolipasa.....33
3.1.5. Selección de cepas.....36
3.2. Perfil de ácidos grasos.....**37**
3.2.1. Curvas de crecimiento.....37
3.2.2. Análisis de FAMEs por CG.....38
3.2.3. Relación ω6/ω3.....44
4. Conclusiones.....**45**
5. Bibliografía.....**46**
6. Anexo **63**

1. Introducción

1.1. Orden Agaricales

Los hongos son organismos eucariotas, heterótrofos, y, generalmente, presentan pared celular con glucanos y quitina. Poseen importantes roles ecológicos como saprófitos, simbiontes mutualistas o parásitos, y pueden encontrarse ubicuamente por todos los ambientes, como en el suelo, sobre o dentro de plantas, animales u otros hongos y hasta en ambientes acuáticos (Webster y Weber, 2012).

Los hongos pertenecientes al orden Agaricales (Agaricomycetes, Agaricomycetidae), son organismos con crecimiento filamentoso y polarizado en el ápice de las células, denominadas hifas, lo que les otorga un patrón de desarrollo radial. El conjunto de hifas forma el micelio, el cual presenta tabiques regulares, en su mayoría con fíbulas, una estructura remanente del crecimiento del micelio secundario dicariótico (Alexopoulos et al., 1996), tal como se esquematiza en la figura 1.

El orden Agaricales comprende 46 familias y 509 géneros (Kalichman et al., 2020) y aproximadamente 25500 especies (Bánki et al., 2025), las cuales generalmente desarrollan un basidioma, como consecuencia de la reproducción sexual, compuesto generalmente por un pie o estípite y un sombrero o píleo (Figura 2). Su himenóforo, donde se producen las esporas exógenas en los basidios, suele estar formado por laminillas. En cuanto al pie, puede presentar velo universal (volva) y/o velo parcial (anillo). Sin embargo, dentro del orden Agaricales también existen especies sin pie, gasteroides (en la madurez con gleba pulverulenta encerrada en un peridio) o con aspecto agaricoide pero con un himenóforo compuesto por poros, entre otros (Cepero de García et al., 2012).

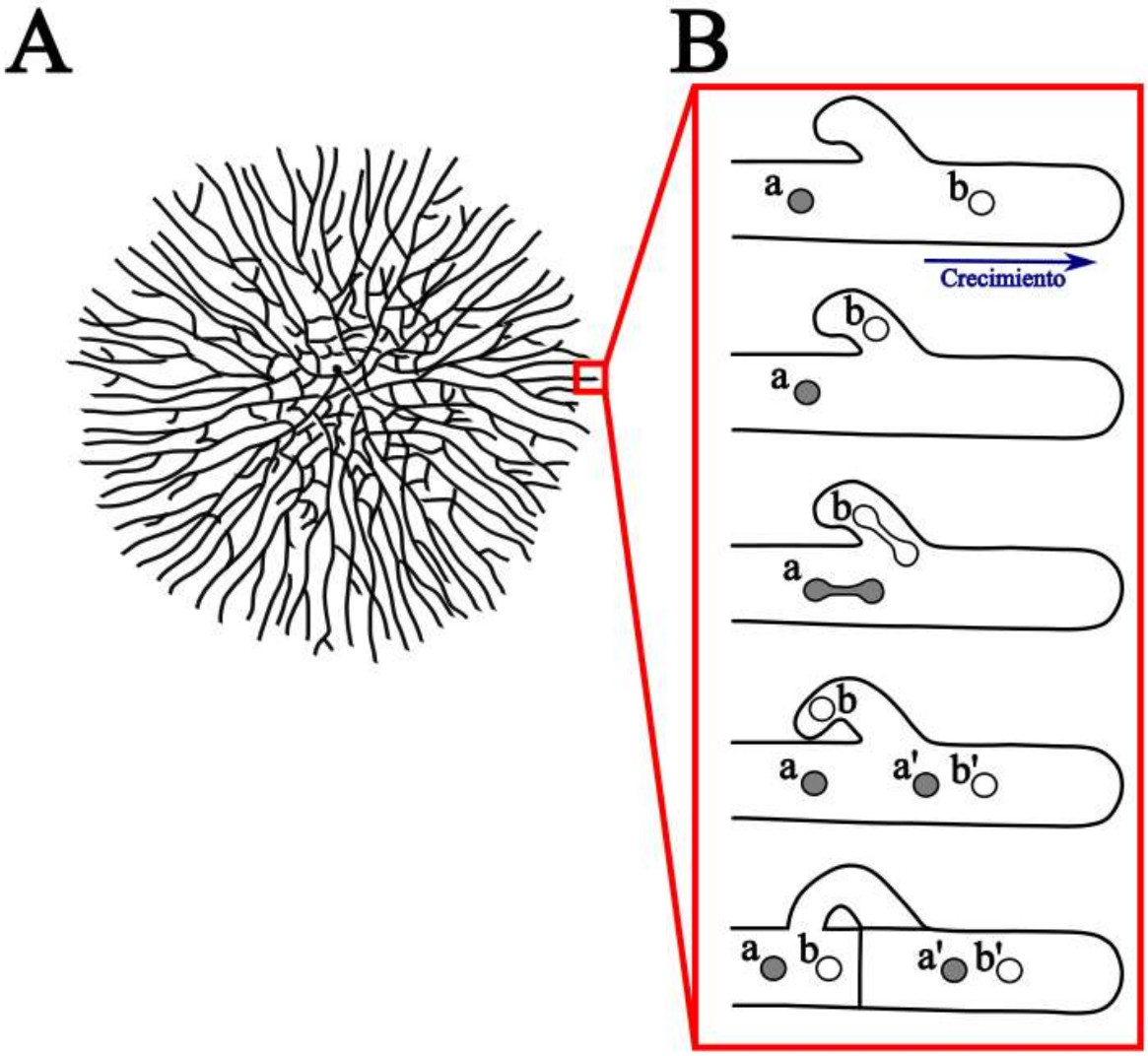

Figura 1: A) Micelio con crecimiento radial, B) Fases de crecimiento del micelio secundario dicariótico.

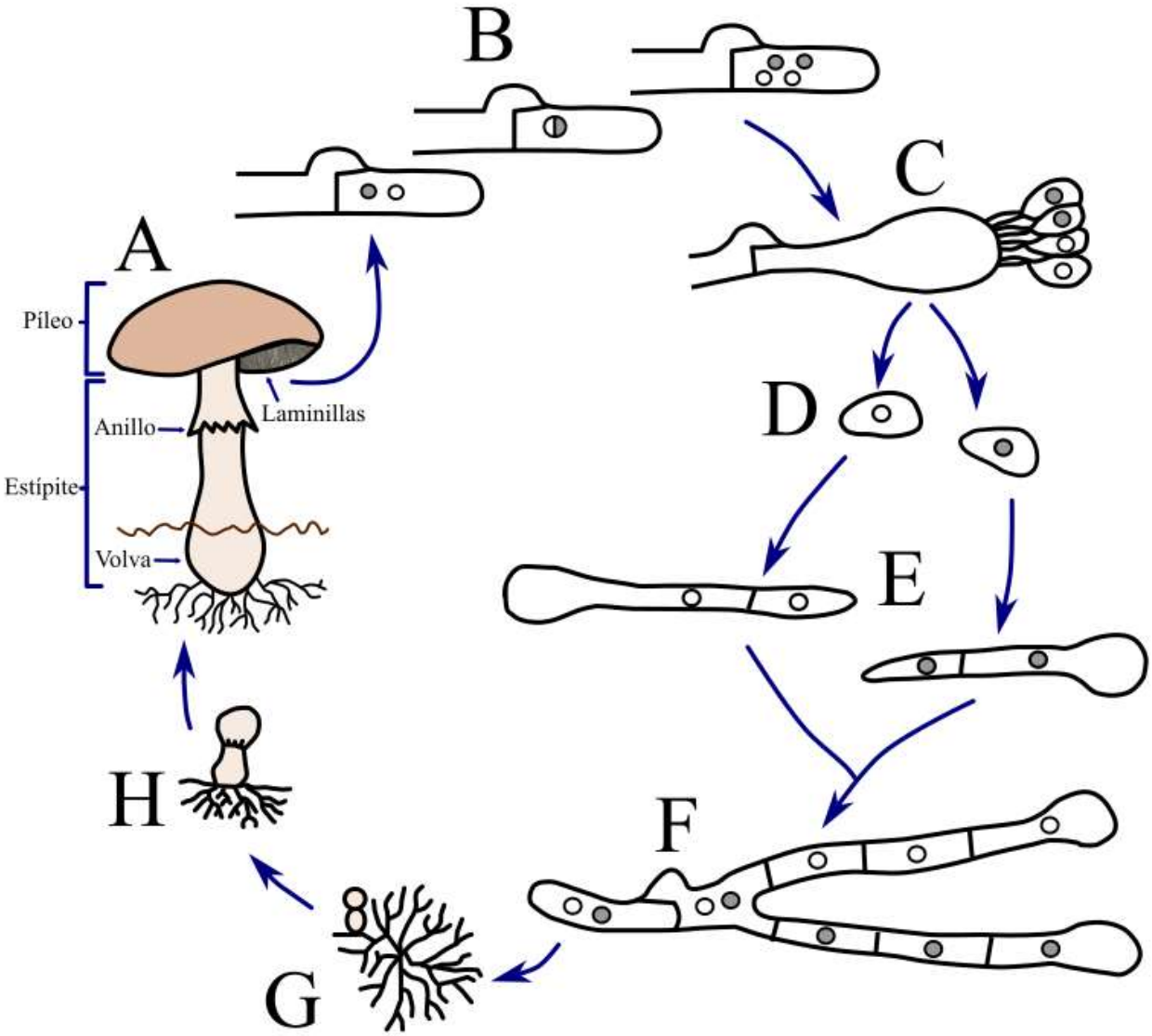

Figura 2: Ciclo de vida general de un hongo del Orden Agaricales A) Basidioma, B) Cariogamia y meiosis en la formación de esporas, C) Basidio tetrasporado, D) Esporas, E) Micelio primario monocariótico, F) Micelio secundario dicariótico como resultado de la plasmogamia de dos tipos sexuales compatibles, G) Formación de micelio terciario: el basidioma, H) Basidioma joven.

1.2. Género *Oudemansiella*

Pertenece a la familia Physalacriaceae (Ainsworth y Bisby, 2011), contiene aproximadamente 30 especies ampliamente distribuidas en regiones tropicales y templadas (Alberti et al., 2020; Dulay, 2023) y son conocidos por crecer de manera saprofítica en hojarasca o en madera (Park et al., 2017).

En cuanto a las características macroscópicas del género, posee píleo seco a víscido, a veces con algunos fragmentos de velo; las laminillas son blancas subdistantes, no marginadas; el pie es central, sin anillo o fugaz, inusualmente membranoso y persistente. En cuanto a las características microscópicas, la pileipellis es una policistodermis o ixotricodermis, sus esporas son grandes, globosas a subglobosas, y posee pleurocistidios y queilocistidios bien desarrollados (Petersen y Hughes, 2010; Alberti et al., 2020; Dulay, 2023).

1.3. Oudemansiella canarii

Argentina ocupa el cuarto lugar a nivel mundial en cantidad de especies reportadas del género, precedida por China, Brasil y Australia. En particular, *O. canarii* es la especie con mayor distribución global (Dulay, 2023). Esta especie produce basidiomas comestibles y su cultivo ha sido reportado sobre diversos desechos agroindustriales, como bagazo de caña de azúcar, paja de arroz, aserrín de eucalipto, etcétera, representando una alternativa para la biorremediación y la promoción de la economía circular (Silveira et al., 2001; F. Xu et al., 2016; Dulay y Damaso, 2017).

Además de su aporte alimenticio, se ha reportado que *O. canarii* produce diversos compuestos bioactivos, como las oudemansinas o estrobilurinas, y que los extractos orgánicos de basidioma y micelio presentan actividad citotóxica al aplicarse en diferentes líneas celulares de cáncer humano, como melanoma, carcinoma renal, de mama, entre otros (Rosa et al., 2005; Niego et al., 2021; Dulay et al., 2022). Estos extractos también han reportado tener actividad antifúngica contra hongos fitopatógenos, como *Sclerotinia sclerotiorum,* y patogénicos humanos, como *Candida albicans* (Rosa et al., 2005; Stadnik y Bettiol, 2007; Alves et al., 2013; De Oliveira Vieira et al., 2021). También, se realizaron estudios sobre el uso de sus enzimas para detoxificar y degradar colorantes contaminantes de la industria textil (Iark et al., 2019; Uber et al., 2022).

Morfológicamente, *O. canarii* presenta un basidioma con sombrero plano convexo, liso o con pequeñas incrustaciones de velo, blanco a grisáceo, laminillas blancas adnatas y subdistantes, pie central blanco, fibroso y sólido (Figura 3). La pileipellis es una ixotricodermis sin fíbulas, basidiosporas hialinas globosas a subglobosas 16-25 x 15-23 µm con un pequeño apículo, basidios tetraesporados. Además, posee queilocistidios 9–28 × 44–84 µm y pleurocistidios 146–246 × 25,75—38,00 µm (Petersen y Hughes, 2010).

Figura 3: Morfología del basidioma de O. canarii observado a campo y en cultivo.

1.4. Ecorregiones de la Argentina

Las ecorregiones son áreas geográficas que se las agrupa según la homogeneidad de ecosistemas. De esta manera, se establecen como unidades de análisis para su manejo y evaluación ambiental (Loveland y Merchant, 2004). La Argentina es el segundo país más grande de América del Sur, después de Brasil, con una superficie total de aproximadamente 2,7 millones de km², y alberga una gran variedad de ecosistemas continentales y marinos. El territorio está compuesto principalmente por llanuras o tierras bajas, aunque también presenta importantes cadenas montañosas y mesetas. Desde un punto de vista biogeográfico, la Argentina abarca tanto la región Andina como la Neotropical, incluyendo parte de la zona de transición sudamericana (Arana et al., 2017).

Burkart et al. (1999) definieron y delimitaron las siguientes regiones para el país: Altos Andes, Bosques Patagónicos, Campos y Malezales, Chaco Húmedo, Chaco Seco, Delta e Islas del Paraná, Espinal, Estepa Patagónica, Esteros del Iberá, Islas del Atlántico Sur, Mar Argentino, Monte de Llanuras y Mesetas, Monte de Sierras y Bolsones, Pampa, Puna, Selva Paranaense, Yungas.

Las Yungas poseen numerosos sectores montañosos vinculados a la cordillera de los Andes. En la Argentina se distribuye discontinuamente en las provincias de Salta, Jujuy, Tucumán y Catamarca. El clima es cálido y húmedo a subhúmedo, y las condiciones de temperatura y humedad varían a razón de la altitud, posición en el relieve y exposición de las laderas. Se caracteriza por una espesa cubierta boscosa donde las altitudes varían entre los 400 y 1300 m y la precipitación anual es del orden de 900-1000 mm, alcanzando algunos parajes 1300 mm. Las lluvias son principalmente de verano y se concentran a lo largo de 5 a 6 meses.

La Selva Paranaense está compuesta por selva subtropical húmeda que cubre las cuencas altas de los ríos Uruguay, Paraná e Iguazú, abarcando casi todo el territorio de la provincia de Misiones, con zonas que alcanzan altitudes de más de 700 m. El clima es cálido y húmedo; las lluvias varían desde 1600-2000 mm y están relativamente bien distribuidas en el año. La temperatura media anual es del orden de 20 °C. Esta ecorregión exhibe la diversidad biológica más alta de todo el país, incluyendo, aproximadamente, 2000 especies de plantas vasculares.

La ecorregión de la Pampa, también llamada Llanura o Pradera Pampeana, ocupa la mayoría de la provincia de Buenos Aires, el noreste de La Pampa, sur de Córdoba, Santa Fe y

Entre Ríos. El clima es templado y húmedo a subhúmedo, con veranos cálidos. Las lluvias, distribuidas durante el año, varían desde aproximadamente 600 mm en el suroeste, hasta 1100 en el noreste. Las temperaturas medias anuales varían entre 15 °C en el sur a cerca de 18 °C en el norte

1.5. Crecimiento de los hongos y metabolismo

El crecimiento de un microorganismo suele caracterizarse mediante una curva de biomasa en función del tiempo, que generalmente presenta una forma sigmoide (Zwietering et al., 1990). La figura 4 ilustra este tipo de curva y las cuatro etapas principales que la componen: I) fase lag, II) fase exponencial, III) fase estacionaria y IV) fase de declive.

En la fase lag, no hay un aumento significativo en la biomasa, ya que los microorganismos recién introducidos en el medio están activando vías metabólicas, sintetizando enzimas y adaptándose al entorno para iniciar su crecimiento.

La fase exponencial se caracteriza por un crecimiento rápido y constante, debido a que los microorganismos alcanzan su máxima capacidad metabólica.

En la fase estacionaria, el crecimiento se detiene progresivamente, alcanzando un equilibrio dinámico entre el número de células nuevas y las que mueren. Esta etapa ocurre cuando los nutrientes comienzan a agotarse, se reduce el espacio disponible o se acumulan productos metabólicos tóxicos que inhiben el crecimiento. Aunque no hay un aumento en la biomasa total, muchas células pueden entrar en un estado de reposo o comenzar a producir metabolitos secundarios.

Finalmente, la fase de declive se caracteriza por una disminución en la biomasa debido a la muerte celular cuando las condiciones del medio se vuelven insostenibles.

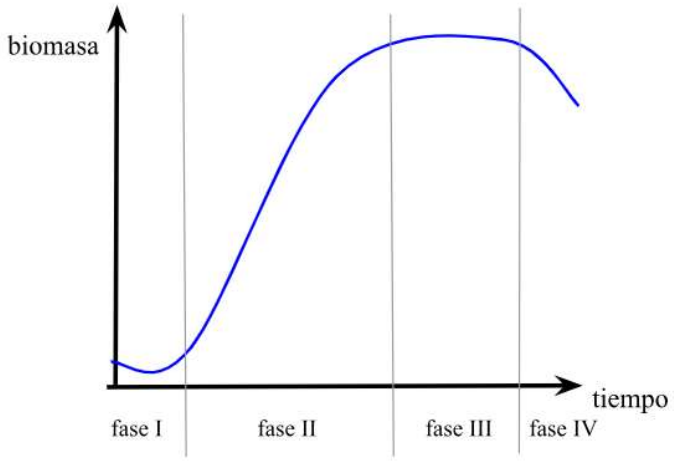

Figura 4: Curva de crecimiento generalizada, separada en sus fases.

1.6. Enzimas fúngicas y usos biotecnológicos

Los hongos se caracterizan por digerir los sustratos externamente, liberando enzimas que descomponen los sustratos en moléculas más pequeñas, para luego ser incorporadas por las células del hongo. Esta capacidad convierte a los hongos en excelentes candidatos para su cultivo en biorreactores, ya que permite obtener estas enzimas y utilizarlas en la industria sin requerir procesos de purificación excesivamente complejos (Cohen et al., 2002; Money, 2016; Kumla et al., 2020; Gao et al., 2022).

Los hongos dentro de Basidiomycota pueden clasificarse según el tipo de pudrición que provocan en la madera: pudrición blanca o pudrición castaña. La madera es un material biológico compuesto principalmente por tres macromoléculas estructurales: celulosa, hemicelulosa y lignina. La composición varía según el tipo de célula vegetal y la especie, pero en promedio se estima que está conformada en una proporción aproximada de 35 % de celulosa, 25 % de hemicelulosa y más del 35 % de lignina (Gadd, 2001). La celulosa es un polisacárido lineal formado por unidades de glucosa que proporciona resistencia y flexibilidad, con dominios cristalinos y dominios amorfos. La hemicelulosa, una mezcla de polisacáridos ramificados, principalmente xilanos, contribuye a la cohesión de la pared celular. Por su parte, la lignina es un polímero fenólico complejo compuesto por unidades de alcoholes aromáticos ramificados irregularmente, lo que otorga rigidez e impermeabilidad (Taiz y Zeiger, 2010). La clasificación según el tipo de pudrición se basa en el aspecto que adquiere la madera tras la acción del hongo: blanquecina y fibrosa como consecuencia de la

remoción de la lignina, utilizando hemicelulosa como fuente de carbono, en el caso de la pudrición blanca; y amarronada con una fragmentación en cubos por la degradación de la celulosa y hemicelulosa en la pudrición castaña (Mester et al., 2004).

La principal característica de los hongos de pudrición blanca, tal es el caso de *O. canarii*, es su capacidad para oxidar y mineralizar la lignina, ya sea de forma directa o indirecta, por la acción de una batería enzimática. Las enzimas con actividad ligninolítica incluyen lacasas, manganeso peroxidasas y lignin peroxidasas, entre otras. Cada especie o cepa puede contar con una o más de estas enzimas, las cuales actúan de manera conjunta con distintos grados de sinergia para descomponer la lignina (Schultz et al., 2008; Rao et al., 2019; Li et al., 2022).

Las lacasas (Lac) son una clase de enzimas oxidorreductasas que contienen átomos de cobre y catalizan la oxidación de compuestos aromáticos, principalmente fenoles, y la reducción del oxígeno para formar agua (Chaurasia y Bharati, 2017; Ali et al., 2019; Malhotra y Alghuthaymi, 2022).

Los hongos de pudrición blanca también poseen enzimas oxidorreductasas dependientes de H_2O_2: manganeso peroxidasas (MnP) y lignin peroxidasas (LiP). Ambos tipos de enzimas son hemo-glicoproteínas que despolimerizan la lignina por diferentes mecanismos. Las enzimas LiP degradan las unidades no fenólicas de la lignina, mientras que las MnP catalizan la oxidación de Mn^{2+} a Mn^{+3}, que difunde en el sustrato para participar de reacciones en la vía de peroxidación lipídica (Hofrichter, 2002; Martínez et al., 2005; Janusz et al., 2013; Bilal et al., 2023).

Históricamente, se han empleado a los hongos de pudrición blanca como candidatos para biorremediación del ambiente debido a su conjunto de enzimas ligninolíticas potentes y eficientes debido a su alta estabilidad, baja especificidad de sustrato y elevada capacidad catalítica (Cameron et al., 2000; Eriksson y Bermek, 2009; Viswanath et al., 2014; Singh y Gupta, 2020; Singhania et al., 2022). Algunos tipos de aplicaciones industriales para estas enzimas incluyen: blanqueado de papel para reducir el uso de químicos, generalmente contaminantes (Virk et al., 2012; Kumar, 2021); degradación de colorantes aromáticos y detoxificación de otros compuestos xenobióticos (Gold et al., 1988; Bansal y Kanwar, 2013; Iark et al., 2019); mejoramiento en el procesado y clarificación de productos alimenticios (Minussi et al., 2002; Bezerra et al., 2015), y etiquetado de anticuerpos en kits diagnósticos tipo test de ELISA (Hamid y Khalil-ur-Rehman, 2009).

Azure B es un colorante heterocíclico utilizado en la industria textil con peso molecular de 305,8 g. Suele ser considerado como recalcitrante en el ambiente debido a que posee una estructura químicamente estable, que suele resistir la degradación de muchos microorganismos o por otros mecanismos no biológicos (Zhang et al., 2023). La capacidad de degradación del Azure B está íntimamente relacionada con la acción de las enzimas peroxidasas del hongo, principalmente la lignin peroxidasa (Archibald, 1992), pero también se ha relacionado el aporte de las lacasas en la sinergia de la reacción de degradación (Arantes y Milagres, 2007).

Además de las enzimas ligninolíticas mencionadas, los hongos también producen otras hidrolasas con funciones clave en su ciclo de vida y con aplicaciones biotecnológicas. Un ejemplo de ello son las fosfolipasas, que hidrolizan uno o más enlaces éster de los glicerofosfolípidos, generando ácidos grasos y otros compuestos lipofílicos. Estas enzimas desempeñan un papel crucial en el metabolismo de lípidos, la señalización celular, la tolerancia al estrés y la adquisición de nutrientes, además de actuar como factores de virulencia en algunas especies (Djordjevic, 2010; Barman et al., 2018). Se ha descrito, por ejemplo, que en *Armillaria ostoyae* (Agaricales, Physalacriaceae) las fosfolipasas presentes en el basidioma son esenciales para la liberación de esporas, lo que sugiere un rol estructural y funcional en la reproducción fúngica (Dippe y Ulbrich-Hofmann, 2011). En el ámbito industrial, sus aplicaciones incluyen la mejora de propiedades emulsionantes en la industria alimentaria, la síntesis de biodiésel, el desgomado de aceites y la producción de detergentes (De Maria et al., 2007; Borrelli y Trono, 2015; Cerminati et al., 2019).

1.7. Importancia de los ácidos grasos en la salud humana, perfil nutricional de los hongos comestibles y de *O. canarii*

Una correcta alimentación es un factor relacionado con un buen estado de salud, principalmente en la etapa de crecimiento o desarrollo. El balance en la ingesta de los macronutrientes, como las proteínas, carbohidratos y lípidos, y los micronutrientes, como vitaminas y minerales, es clave para el desarrollo (Gush et al., 2021; Savarino et al., 2021). Dentro del grupo de los lípidos, se encuentran los ácidos grasos que tienen funciones en la fluidez de las membranas, formando parte de los fosfolípidos. Los ácidos grasos son moléculas hidrocarbonadas largas con un grupo carboxilo terminal, y se los puede clasificar según si presentan, o no, uno o varios dobles enlaces en alguna posición (Nagy y Tiuca,

2017). Aquellos que no lo presentan se denominan ácidos grasos saturados (SAFA, como el ácido esteárico y ácido palmítico), mientras que dentro de aquellos que tienen insaturaciones encontramos aquellos que presentan un solo doble enlace (MUFA, como el ácido oleico) y los que presentan dos o más dobles enlaces (PUFA, como el ácido linoleico). Los ácidos grasos también se pueden clasificar según la longitud de su cadena carbonada y la posición del primer doble enlace en la cadena carbonada desde el extremo metilo. Los PUFA se clasifican como omega 6 (ω-6) y omega 3 (ω-3) cuando su primer doble enlace se encuentra entre los átomos de carbono 6 y 7, o entre los átomos de carbono 3 y 4, respectivamente, contando desde el grupo metilo (Saini y Keum, 2018). En la figura 5 se encuentran representados algunos de los ácidos grasos más comunes en la naturaleza, con su nombre común y su estructura. También, se incluye en el Anexo una lista más detallada de los ácidos grasos, su nombre común y su nombre sistemático.

Dentro de los ácidos grasos insaturados, los más relevantes en la alimentación humana son el ácido α-linolénico (ω-3) y el ácido linoleico (ω-6), ya que el organismo no puede sintetizarlos y deben obtenerse a través de la dieta, razón por la cual se los considera esenciales. En contraste, otros ácidos grasos poliinsaturados de cadena más larga, como el ácido eicosapentaenoico y el ácido docosahexaenoico, que pueden sintetizarse a partir del ácido α-linolénico, aunque en cantidades limitadas (Makhutova et al., 2025).

La deficiencia de estos ácidos grasos esenciales se ha relacionado con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (Salter, 2013; Hammad et al., 2016), artritis reumatoide (Connor, 2000), diabetes tipo 2 (Simopoulos, 1999), enfermedad inflamatoria intestinal (Fetterman y Zdanowicz, 2009) y, en neonatos, incorrecto desarrollo de la retina y el cerebro (Innis, 1991; Byelashov et al., 2015). El efecto de protección de los ácidos grasos esenciales, en especial los ω-3, estaría dado por atenuación al daño oxidativo, la inflamación, perturbaciones neuroquímicas y apoptosis (Essawy et al., 2025).

Por otro lado, existen otras funciones posibles que se les puede atribuir a los ácidos grasos, como lo es el caso del ácido laúrico (C12:0), principal componente del aceite de coco, que ha mostrado una destacada actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas (Gram positivas y negativas), hongos patógenos y virus (Nitbani et al., 2016; Anzaku et al., 2017). No obstante, se ha reportado que no afecta significativamente a las bacterias ácido lácticas beneficiosas, mientras que sí presenta una alta actividad contra bacterias patógenas intestinales, como *Clostridium* spp. (Matsue et al., 2019).

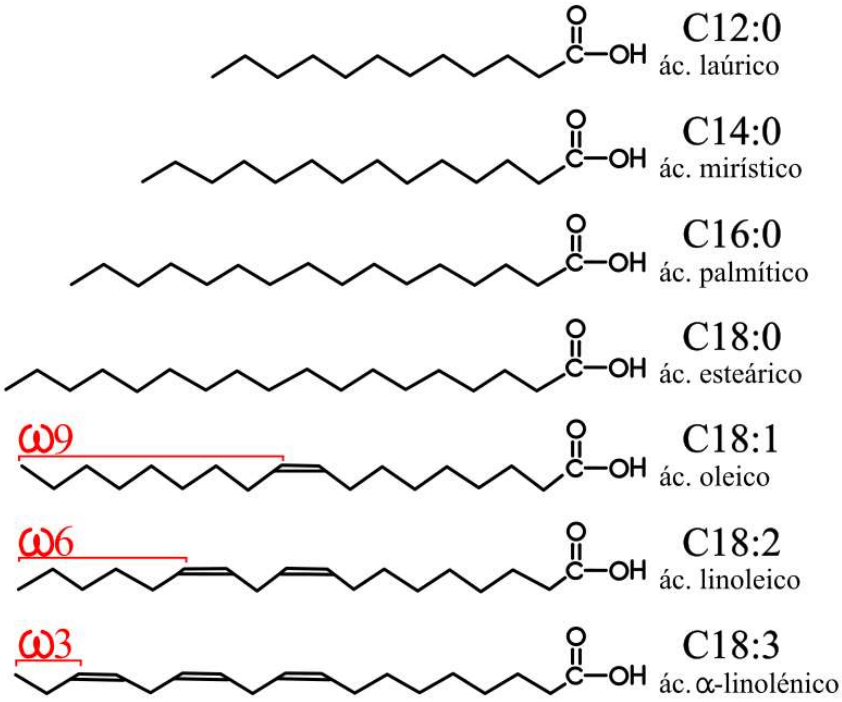

Figura 5: Nombres y estructuras de los principales ácidos grasos.

En general, los hongos denominados comestibles, son una fuente de alimento rica en carbohidratos, proteínas, fibras, vitaminas, minerales y, en menor medida, lípidos. El peso seco comprende aproximadamente entre un 50-65% de carbohidratos, 19-35% de proteínas, y 2-6% lípidos (Rathore et al., 2017). Dentro de este último grupo, encontramos ácidos grasos insaturados en altas concentraciones, entre el 52-87% del total de ácidos grasos (Kavishree et al., 2008; Muszyńska et al., 2018) lo que convierte a los hongos comestibles en una opción baja en grasa pero alta, en la mayoría de los casos, en ácidos poliinsaturados de gran importancia biológica. Además, se ha documentado que los hongos contienen otros compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas, como los flavonoides, polifenoles, β-glucanos, lectinas, tocoferoles, ácido ascórbico y carotenoides (Kalač, 2009; Niego et al., 2021).

Alberti (2022) reportó el primer perfil de ácidos grasos para los basidiomas de *O. canarii* en la Argentina y su comparación con otras especies de hongos comestibles ampliamente producidos, como *Agaricus bisporus y Pleurotus ostreatus,* demostró una mayor producción de lípidos totales: 7,3% versus 3% y 1,7%, respectivamente. También, se

estableció una mayor prevalencia de ácidos insaturados sobre los saturados. Los ácidos grasos predominantes fueron ácido oleico (34%) y linoleico (50%).

1.8. Objetivos generales

1.8.1. Caracterizar cualitativamente las actividades enzimáticas de cepas de *O. canarii* provenientes de tres ecorregiones de la Argentina.

1.8.2. Analizar el perfil de ácidos grasos presente en micelio de distintas cepas producto del crecimiento en medio líquido.

1.9. Objetivos específicos

1.9.1. Desarrollar curvas de crecimiento para evaluar el crecimiento micelial de las cepas en medio líquido y estático.

1.9.2. Analizar el comportamiento de las cepas de *O. canarii* en medios de cultivo específicos para analizar cualitativamente las enzimas de interés biotecnológico.

1.9.3. Realizar una extracción de lípidos y derivatización de ácidos grasos para análisis por cromatografía gaseosa (CG-FID).

1.10. Hipótesis

1.10.1. Las cepas de *O. canarii* provenientes de tres ecorregiones contienen enzimas de interés biotecnológico.

1.10.2. Existen diferencias en los perfiles lipídicos de las cepas según la región de origen.

2. Materiales y métodos

2.1. Listado de cepas y origen

Las diez cepas identificadas como *O. canarii* fueron depositadas en el cepario de hongos filamentosos BAFC del Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental FCEN-UBA y en el cepario CHA del Laboratorio de Hongos Agaricales. La figura 6 esquematiza la distribución geográfica de las cepas y su número identificador.

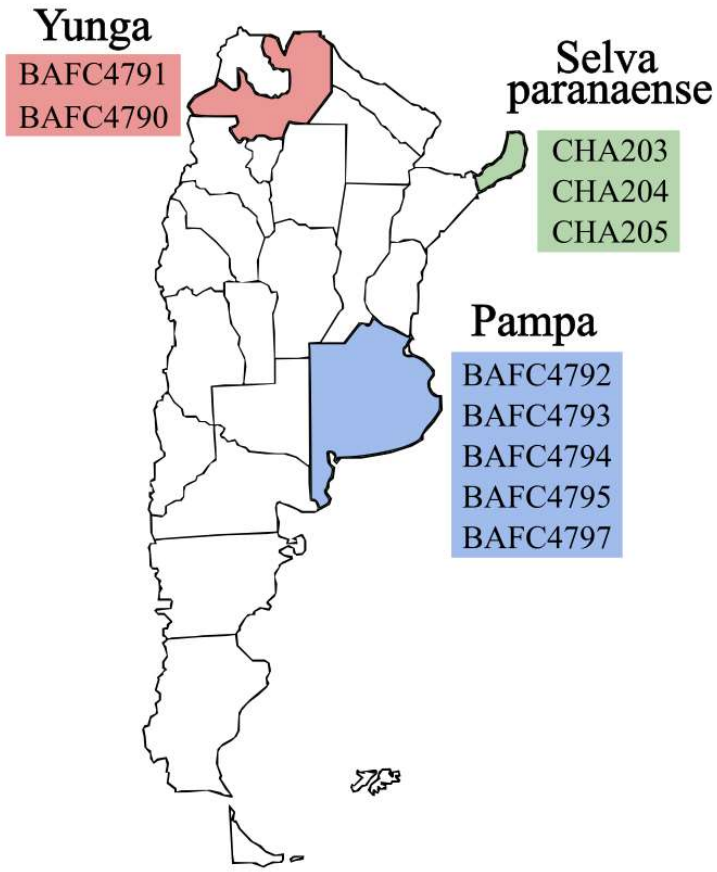

Figura 6: Cepas y ecorregiones

2.2. Medios de cultivo para la caracterización enzimática cualitativa

Se realizaron ensayos en placas de Petri con medio sólido para determinar cualitativamente si las cepas presentaban actividad de enzimas ligninolíticas biotecnológicamente aprovechables a partir de la presencia, o no, de halo de degradación o

precipitado, según el medio implementado. Las cepas fueron inoculadas en el centro de la placa mediante un taco de 0,5 cm de diámetro, asegurando así que todas contaran con el mismo inóculo inicial. La incubación se llevó a cabo en oscuridad a 24 °C, temperatura óptima determinada en estudios previos. Se midió el crecimiento micelial y el halo con regla milimetrada para su posterior comparación entre cepas.

2.2.1. Actividad lacasa

Se utilizó un medio sólido que contenía 6,3 g/L de extracto de malta, 1% de glucosa y 20 g/L de agar (Agar Malta "Clara") suplementado con DMP (2,6-dimetoxifenol) 1 mM. Se midió con regla milimetrada, por duplicado, al día 3, 7, 10 y 14 post inoculado su crecimiento micelial y el halo de precipitado anaranjado/rojizo, como consecuencia de la oxidación del DMP (Betts y King, 1991).

2.2.2. Actividad manganeso peroxidasa

Se utilizó un medio sólido que contenía 6,3 g/L de extracto de malta, 1% de glucosa y 20 g/L de agar (Agar Malta "Clara") suplementado con $MnCl_2$.4H2O 1 mM. Se midió por duplicado con regla milimetrada al día 5, 9 y 14 post inoculado el crecimiento micelial y el halo de precipitado castaño, producto de la oxidación del Mn (II) a Mn (III) (Paszczyński et al., 1988).

2.2.3. Actividad lignin peroxidasa y actividad ligninolítica general

Se utilizó un medio sólido que contenía 6,3 g/L de extracto de malta, 1% de glucosa y 20 g/L de agar (Agar Malta "Clara") suplementado con el colorante Azure B 50 µM (Pointing, 1999). Se midió con regla milimetrada, por duplicado, el crecimiento micelial al día 3, 7, 10 y 14 post inoculado. Luego de alcanzar el borde de la placa, se continuó haciendo un registro fotográfico de la degradación del medio dos veces por semana hasta el día 49 post inoculado.

2.2.4. Actividad fosfolipasa

Se utilizó un medio sólido compuesto por 5 g/L de triptona, 2,5 g/L de extracto de levadura, 1 g/L de glucosa en 900 ml de agua destilada, esterilizado en autoclave, suplementado con 100 ml de una solución con 5% de yema de huevo (Price et al., 1982; Jain et al., 2017). Se colocó un huevo 30 minutos en alcohol 97°, se separó la yema en esterilidad,

se completó con solución fisiológica estéril hasta alcanzar la concentración indicada y se la agregó al medio agarizado tibio, para evitar la desnaturalización y agregado de las proteínas. Se midió con regla milimetrada el crecimiento micelial y el halo de precipitado insoluble por duplicado al día 3, 5, 7, 10 y 12 post inoculado. Se fotografiaron las placas en luz natural y UV (312 nm) .

2.2.5. Análisis estadístico

Se analizaron los datos, por duplicado, de crecimiento micelial y de halo de precipitado/degradación en los diferentes días post inoculación a partir del análisis de varianza (ANOVA), realizada en el programa R (R Core Team, 2024). Previo al análisis estadístico se realizaron los tests de Shapiro-Wilks y de Levene para constatar los parámetros de normalidad y homocedasticidad, respectivamente. Las medias fueron comparadas por pruebas post hoc de contrastes de Tukey *pairwise*. Las cepas destacadas para cada medio de cultivo fueron seleccionadas basadas en la sumatoria de contrastes con p-valor < 0,05 y su valor de *Estimate*. Además, se confeccionaron gráficos para crecimiento micelial y halo versus tiempo con el paquete *ggplot2*.

2.3. Perfil de ácidos grasos

Se seleccionaron cinco cepas (al menos una de cada ecorregión) destacadas según su desempeño en la sección 2.2.

2.3.1. Curvas de crecimiento

Se siguió un protocolo adaptado de López-Peña et al. (2013). Se inocularon 14 Erlenmeyers de 50 ml que contenían 10 ml de medio líquido extracto de malta 12,7 g/L a partir de un inóculo de micelio de 0,5 cm de diámetro para cada cepa. Se los incubó a 24°C, en oscuridad y sin movimiento (estático). Cada 7 días se muestrearon por duplicado aleatoriamente y se los filtró con un embudo Büchner y un kitasato conectado a una bomba de vacío tipo trompa de agua; luego se secó en estufa a 30°C y se pesó el micelio seco con balanza de precisión (Ohaus modelo Explorer E01140). Con estos puntos se confeccionaron curvas de regresión local (LOESS) de biomasa seca versus tiempo a partir del paquete *ggplot2* del programa R.

2.3.2. Obtención de micelio fresco para la extracción de ácidos grasos

Se obtuvo micelio en los días correspondientes a mayor biomasa, replicando las condiciones de la sección 2.3.1, pero realizando un proceso de liofilizado en vez del secado en estufa, con un liofilizador LABCONCO LYPH-LOCK 6. El liofilizado es un proceso de deshidratación que se utiliza para conservar materiales sensibles al calor. Consiste en la eliminación del agua por sublimación; es decir, el paso directo de hielo a vapor sin pasar por el estado líquido (Kawasaki et al., 2019). Obtuvimos entonces micelio liofilizado en los tiempos correspondiente a mayor biomasa seca, por duplicado.

2.3.3. Extracción de lípidos y derivatización de ácidos grasos del micelio liofilizado

La extracción de lípidos se realizó sobre los micelios previamente liofilizados (entre 30 y 80 mg) con una mezcla de cloroformo: metanol (2:1 v/v) (Folch et al., 1957). La muestra se colocó en un baño de ultrasonido durante quince minutos y la extracción se realizó 3 veces. La fase orgánica que contenía los lípidos fue separada después de centrifugar durante 5 minutos y se evaporó bajo una corriente de nitrógeno en un vial de vidrio de 2 mL, se pesó el extracto y se reservó a -18 ºC. Todos los solventes utilizados fueron de calidad plaguicida. Se recuperaron aproximadamente entre 3,5 y 10 mg de lípidos de cada micelio. Los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMEs) de los lípidos totales se prepararon mediante reacción con HCl al 4% en CH_3OH a 70 °C durante 2 horas (transmetilación). Después de enfriar, se añadió una gota de agua y los FAMEs se extrajeron con 0,5 mL de diclorometano tres veces. La fase orgánica que contenía los FAMEs fue analizada mediante cromatografía de gases (CG-FID) en un cromatógrafo Shimadzu, Nexis CG-2030, equipado con una columna capilar Innowax (Agilent, 100% polietilenglicol, 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno, 0,5 µm de espesor de película). Se utilizó nitrógeno como gas portador, flujo 1 ml/min. Para la inyección se utilizó un inyector automático AOC-20i Plus, en modo split a 240 °C. La temperatura del detector de ionización por llama se fijó a 280 °C. El programa de temperatura fue de 100 °C (1 minuto), aumento de 15 °C/min hasta 200 °C (1 minuto), y 2 °C/min hasta 240 °C (18 minutos). La identificación de los ácidos grasos se realizó por comparación de los tiempos de retención con un estándar comercial (FAME Mix Supelco, C4-C24) analizado en las mismas condiciones de CG-FID. La cuantificación relativa se realizó a partir del cálculo de las áreas de los picos del cromatograma.

2.3.4. Análisis estadístico

Se compararon las varianzas de diferentes ácidos grasos entre cepas en los diferentes tiempos y también se compararon las varianzas entre los diferentes tiempos para una misma cepa, a partir de pruebas ANOVA. Se constataron previamente los parámetros de normalidad y homocedasticidad a partir de los tests de Shapiro-Wilks y de Levene, respectivamente. A los que dieron significativos (p-valor < 0,05) se les realizaron pruebas post hoc de contrastes de Tukey *pairwise*. Finalmente, se confeccionaron gráficos de barras con el paquete *ggplot2* del programa R para visualizar los datos.

3. Resultados y discusión

3.1. Análisis cualitativo de enzimas

3.1.1. Lacasa

Se pudo establecer la presencia de la enzima en todas las cepas de *O. canarii*. La velocidad de crecimiento micelial de las cepas fue similar a lo largo del tiempo (Figura 7) y todas presentaron halo semejante, exceptuando la cepa yungueña BAFC 4791 (Figura 8). En todas las cepas no se observó halo en el día 14, por lo que se lo omitió de la figura 8. El análisis estadístico evidenció que las cepas pampeanas BAFC 4797, BAFC 4795, BAFC 4794 y la paranaense CHA 204 se diferenciaron significativamente del resto, destacándose en ese orden. De las cepas yungueñas la mejor fue la BAFC 4790, pero no se destacó entre las cepas de las otras regiones. La figura 9 muestra la apariencia de las placas a lo largo del tiempo del ensayo con el halo naranja característico, que se deposita con un radio mayor al crecimiento del micelio y desaparece al momento de que se completa la caja de Petri.

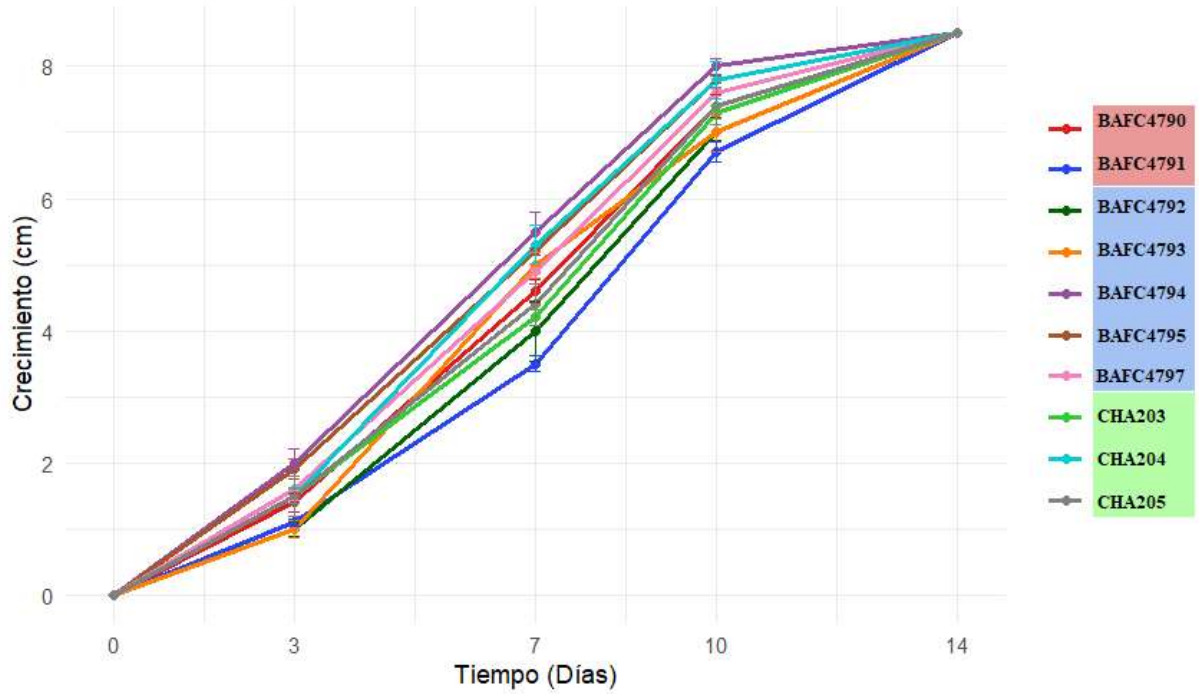

Figura 7: Crecimiento micelial en placa de las diferentes cepas en el medio suplementado con DMP

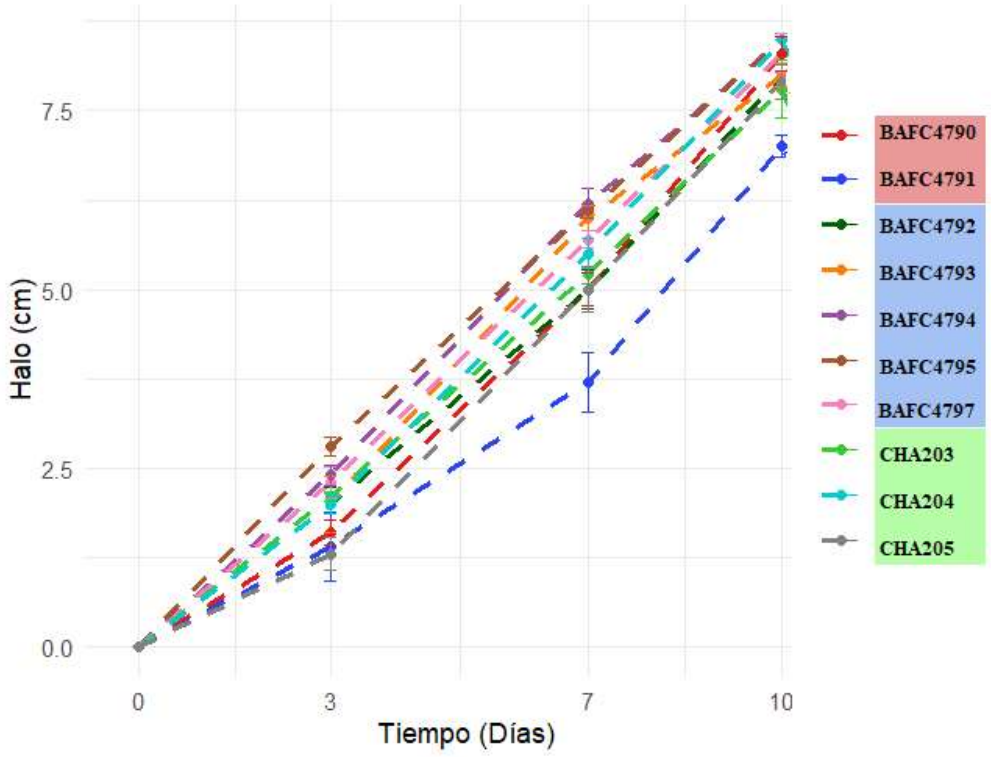

Figura 8: Halo en placa de las diferentes cepas en el medio suplementado con DMP

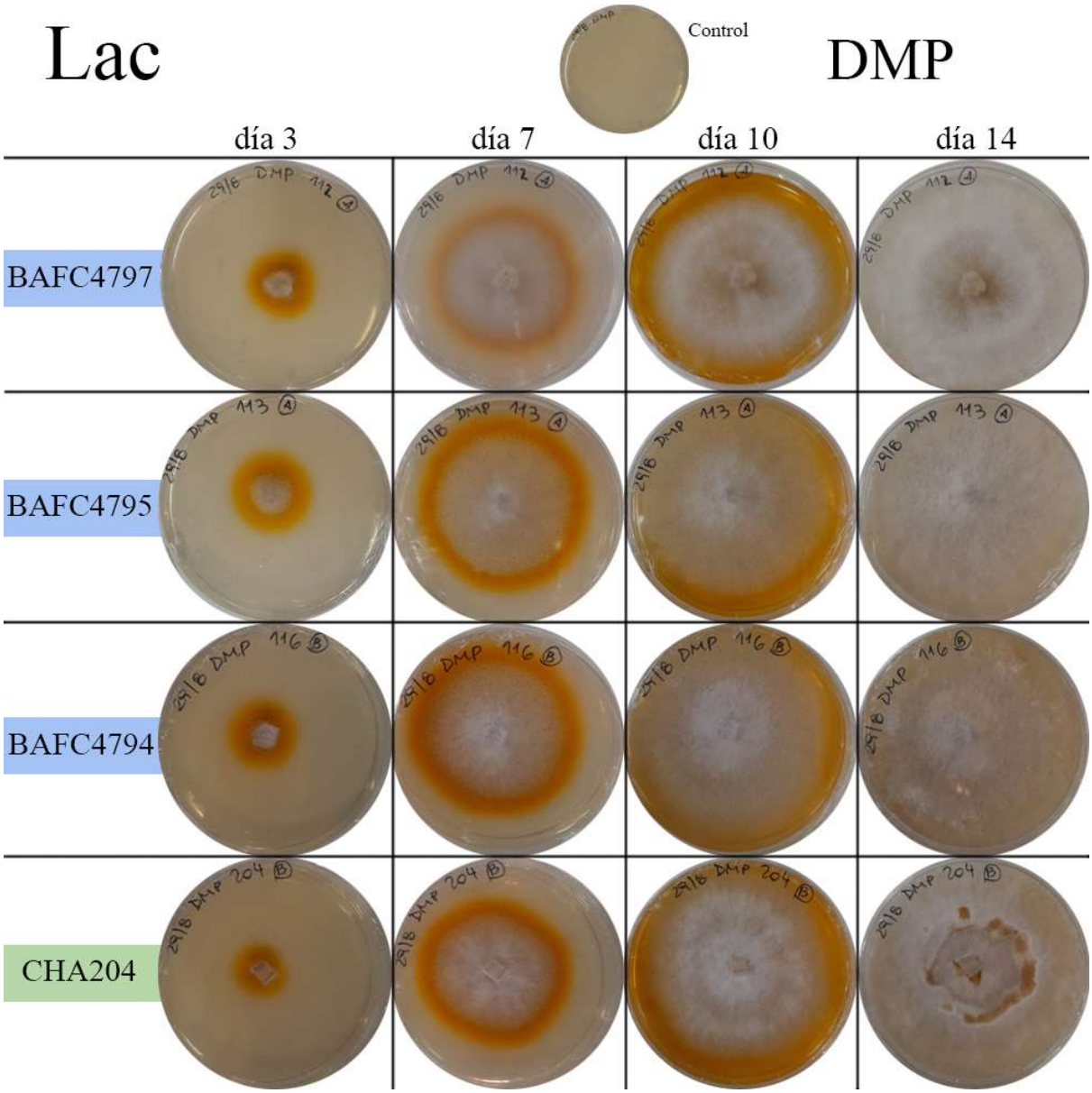

Figura 9: Aspecto de las placas en los siguientes días post inoculación de las cepas destacadas en el medio suplementado con DMP.

Por otra parte, cabe señalar que el DMP no suele ser utilizado como un método cualitativo para evaluar la actividad enzimática de la enzima Lac, sino como sustrato para métodos cuantitativos de medición de actividad Lac, utilizándolo sobre extractos enzimáticos y midiendo su absorbancia a 468 nm (Arora y Sharma, 2010; Fonseca et al., 2014).

Los resultados obtenidos concuerdan con los obtenidos previamente por Okino et al. (2000) y Uber et al. (2022), quienes ensayaron métodos de screening cualitativos. Más recientemente, Sharan et al. (2024) profundizaron en el estudio de esta enzima en *O. canarii*,

analizando sus propiedades y cinética tanto en su forma libre como inmovilizada, y evaluando el efecto de NaCl y Na_2SO_4 sobre su actividad catalítica.

3.1.2. Manganeso peroxidasa

Todas las cepas de *O. canarii* lograron crecer en el medio suplementado con $MnCl_2.4H_2O$ pero con diferencias notables en su velocidad, siendo las cepas yungueñas las que alcanzaron el total de la placa en mayor tiempo (Figura 10). Con respecto al halo de precipitado, pudo observarse en la mayoría de las cepas hacia el final del ensayo (Figura 11), pero en el caso de las cepas BAFC 4791 y la CHA 203 demoraron más días en hacerlo. Esto podría deberse a que el hongo posee el gen para esta enzima pero no necesariamente la sintetiza de forma constitutiva, y solo lo hace al recibir el estímulo adecuado, lo cual podría estar dado, en este caso, por la presencia de iones de Mn^{2+} en el medio. Paralelamente, la cepa BAFC 4790 creció correctamente pero no generó un halo significativo en ningún momento del ensayo. Curiosamente, la cepa BAFC 4794 presentó un halo más tenue y no con un color sólido como el resto, distribuidos en pequeñas zonas concéntricas, por lo que se la descartó del análisis.

El análisis estadístico evidenció diferencias significativas entre las cepas, destacándose BAFC 4793, BAFC 4797 y BAFC 4792. Seguido a éstas, se destacó la cepa CHA 204 entre las paranaenses, presentando un halo similar a las primeras (Figura 12).

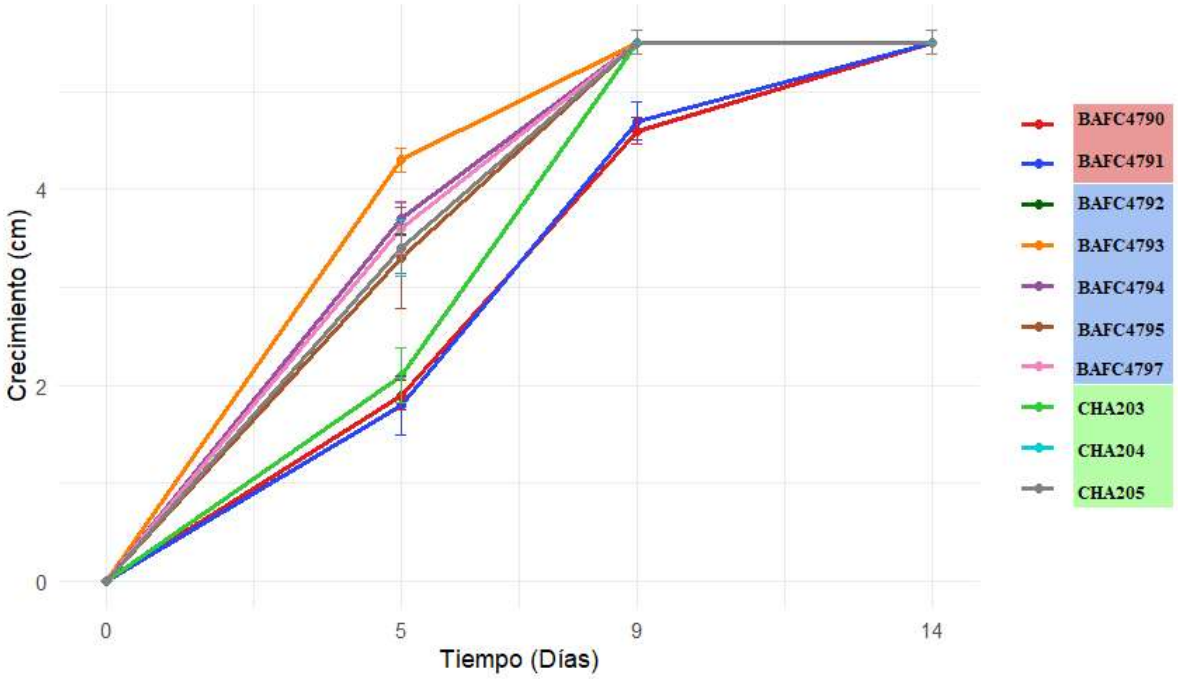

Figura 10: Crecimiento micelial en placa de las diferentes cepas en el medio suplementado con $MnCl_2.4H_2O$

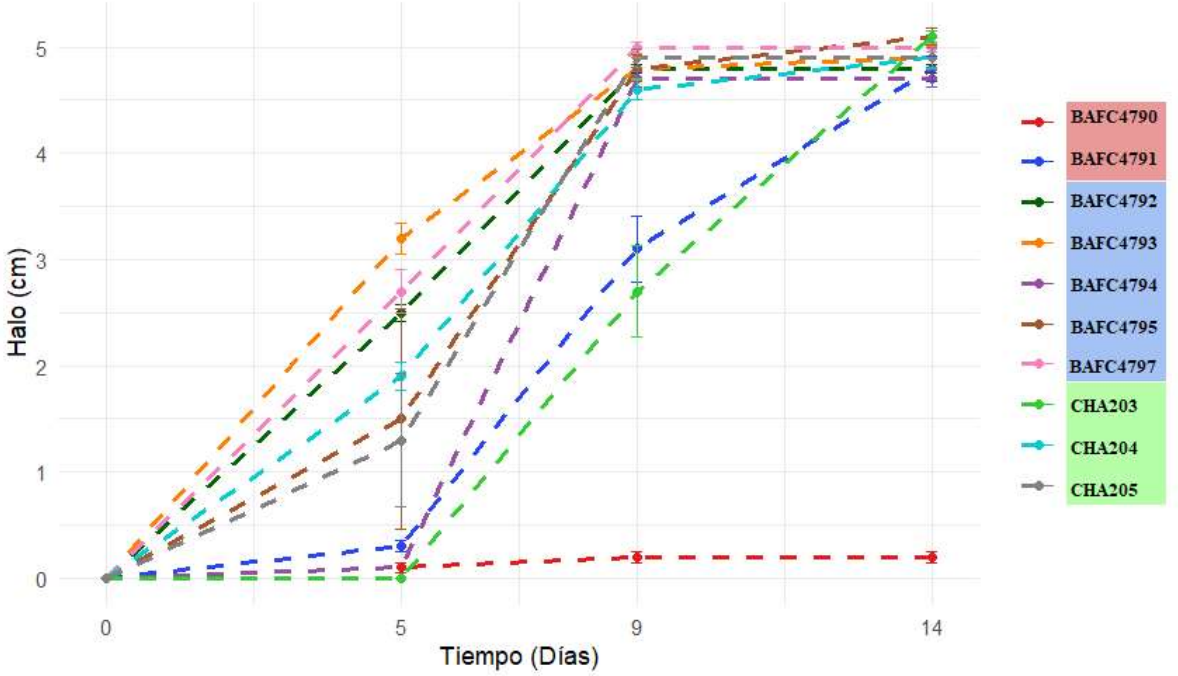

Figura 11: Halo en placa de las diferentes cepas en el medio suplementado con $MnCl_2.4H_2O$

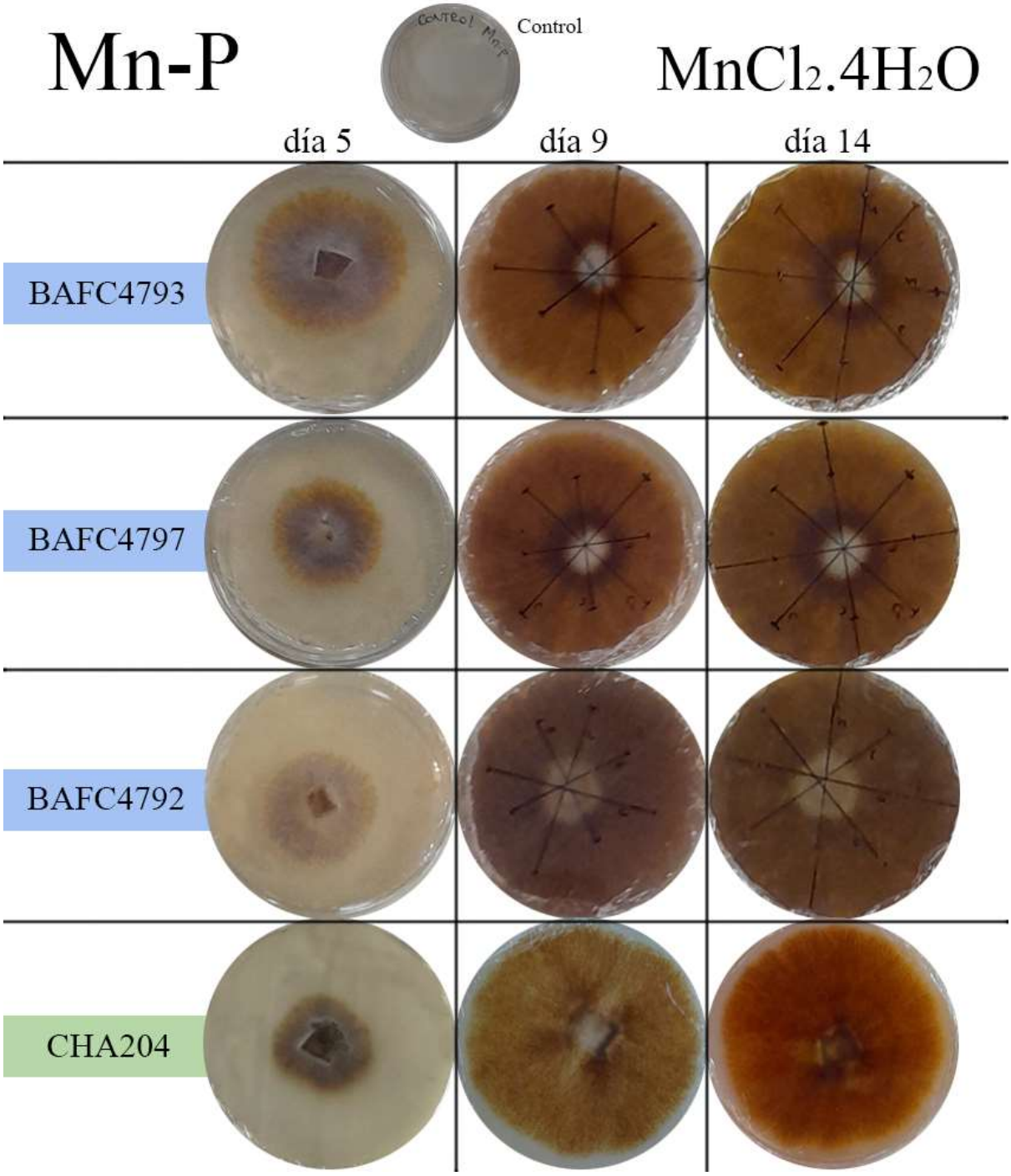

Figura 12: Aspecto de las placas en los siguientes días post inoculación de las cepas destacadas en el medio suplementado con $MnCl_2·4H_2O$.

Era esperable que algunas o, como mínimo, una de las cepas presente actividad MnP ya que esta se la ha reportado en varias oportunidades en otras especies de hongos de pudrición blanca, como *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*, en las cuales la adición de manganeso como inductor en el medio, aún

en poca concentración, aumenta significativamente la actividad de MnP, favoreciendo un incremento de hasta el 90% en su nivel de actividad (Asgher et al., 2016; Benavides et al., 2024).

Además, Alberti (2022) determinó cualitativamente la actividad de manganeso peroxidasa de *O. canarii* mediante el uso del mismo medio de cultivo obteniendo resultados similares.

3.1.3. Lignin peroxidasa

Todas las cepas lograron colonizar las placas de Petri correctamente y el Azure B en esa concentración no les resultó tóxico para su crecimiento (Figura 13). Las cepas misioneras CHA 204 y CHA 205, junto con la pampeana BAFC 4797, crecieron significativamente más rápido que el resto.

Con respecto a la degradación, se pudo observar al día 17 aprox. post inoculación, y se llevó un registro fotográfico en los días siguientes. La figura 14 compara la degradación de todas las cepas desde el día 17 hasta el 49. Se observa como la degradación de la mayoría de las cepas fue heterogénea, sin un halo definido radialmente a diferencia de la cepa CHA 204. A pesar de esto, las cepas que presentaron mayor degradación, en general al día 38, fueron en su mayoría pampeanas: BAFC 4793, BAFC 4794, BAFC 4797; y la yungueña BAFC 4791. Ninguna de las cepas misioneras alcanzó el nivel de degradación de las otras regiones; la más destacada de la región fue la cepa CHA 204.

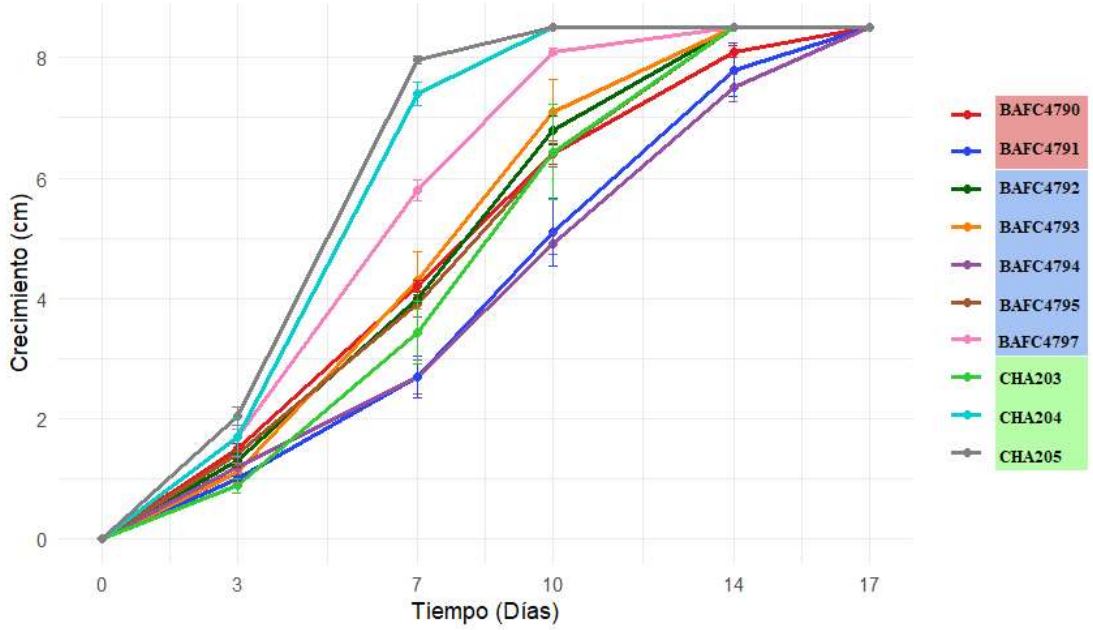

Figura 13: Crecimiento micelial en placa de las diferentes cepas en el medio con Azure B.

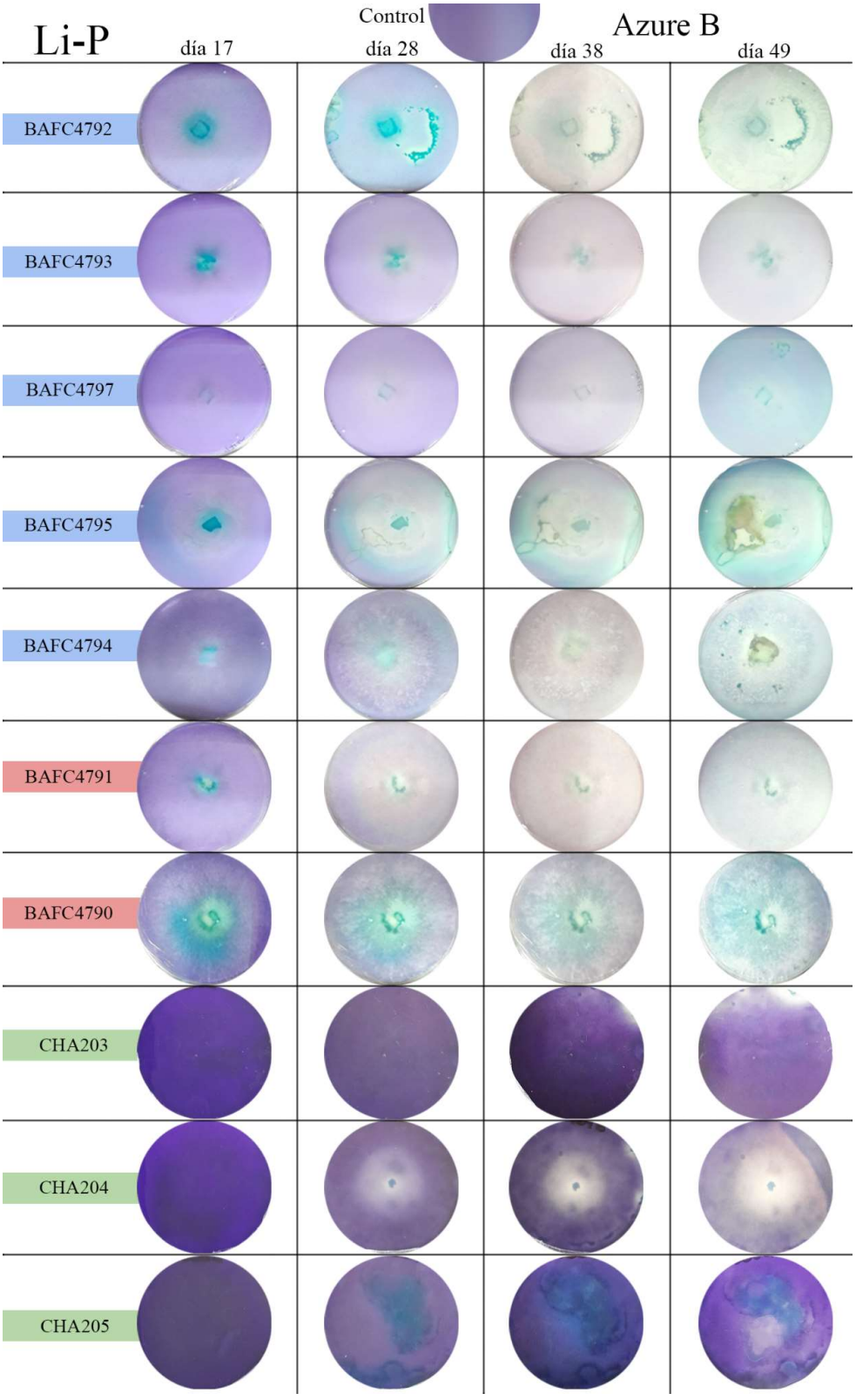

Figura 14: Aspecto de las placas en los siguientes días post inoculación de todas las cepas en el medio con Azure B.

La degradación de Azure B como estimador de la actividad lignin peroxidasa se usa ampliamente para describir a muchos hongos de pudrición blanca (Arora y Gill, 2001; Levin et al., 2004). Previamente, Molano et al. (2008) han reportado la capacidad de degradación del Azure B para *O. canarii* y otros hongos de pudrición blanca en concentraciones similares a las de este trabajo.

Postemsky (2016) informó que la decoloración del medio con Azure B para *Grifola frondosa* y *Ganoderma lucidum*, dos hongos poliporales de pudrición blanca, comenzó a partir del día 30 y 37, siendo, en nuestro caso una decoloración más temprana del medio.

3.1.4. Fosfolipasa

Los resultados estadísticos indicaron que la velocidad de crecimiento varió significativamente entre cepas, con BAFC 4790 y BAFC 4795 como las más rápidas, seguidas de BAFC 4791. En comparación, notamos como el resto de cepas necesitaron casi el doble de días para completar la caja de Petri (Figura 15).

Con respecto a los precipitados, el medio con yema de huevo se caracteriza por reunir varios sustratos posibles para varias enzimas, como por ejemplo lípidos, fosfolípidos y lipoproteínas, entre otros compuestos complejos. A pesar de esto, la formación de un precipitado insoluble se lo adjudica a la presencia de la fosfolipasa C, también llamada lecitinasa (Lonon et al., 1988) y se suele utilizar para bacterias u hongos levaduriformes (Phyo Wai et al., 2016; Jain et al., 2017), por lo que no sabíamos previamente el aspecto del precipitado para un hongo filamentoso. La figura 16 compara el aspecto entre las placas a lo largo del tiempo. Las fotografías con luz UV permitieron observar más claramente, en algunos casos, los precipitados formados. Se distinguieron principalmente dos tipos: un halo amarillento-amarronado insoluble, y un halo de degradación donde el medio se aclara de manera más o menos radial. El primero es el halo que le atribuimos la acción de fosfolipasas, mientras que el segundo se debe a acción de proteasas. La mayoría de las cepas generaron ambos tipos de halo en mayor o menor medida. Las cepas que solo presentaron halo de degradación fueron BAFC 4791 y BAFC 4793, mientras que no se observó halo de ningún tipo en las cepas BAFC 4794, BAFC 4797 y CHA 203.

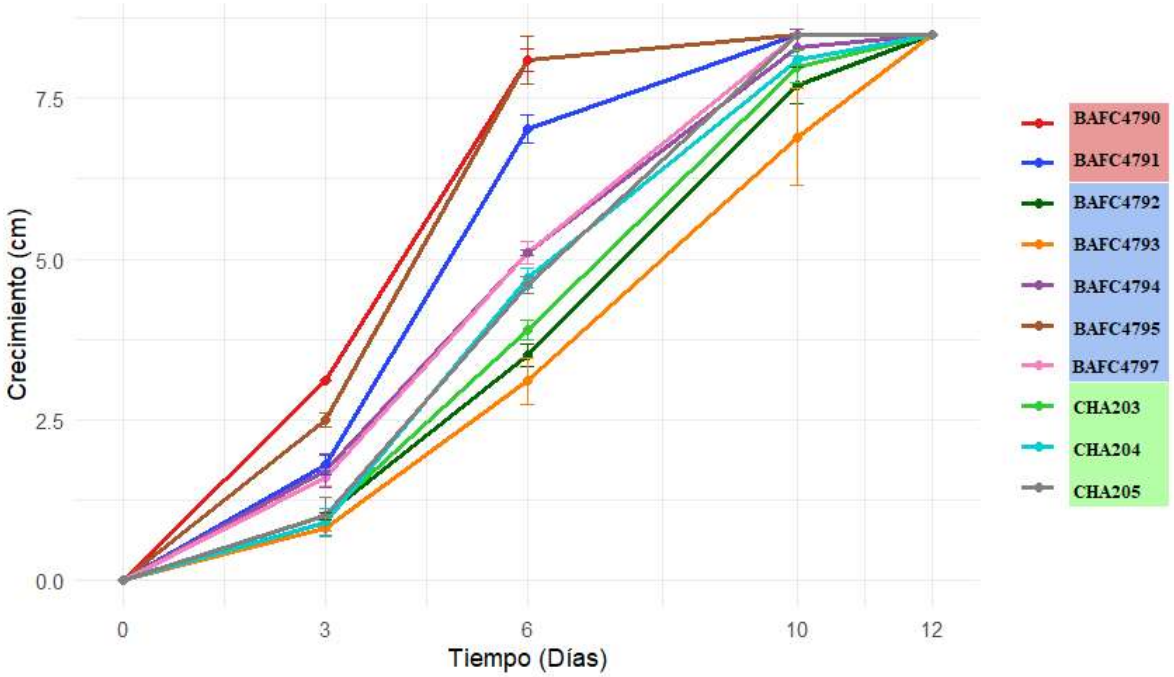

Figura 15: Crecimiento micelial en placa de las diferentes cepas en el medio suplementado con yema de huevo.

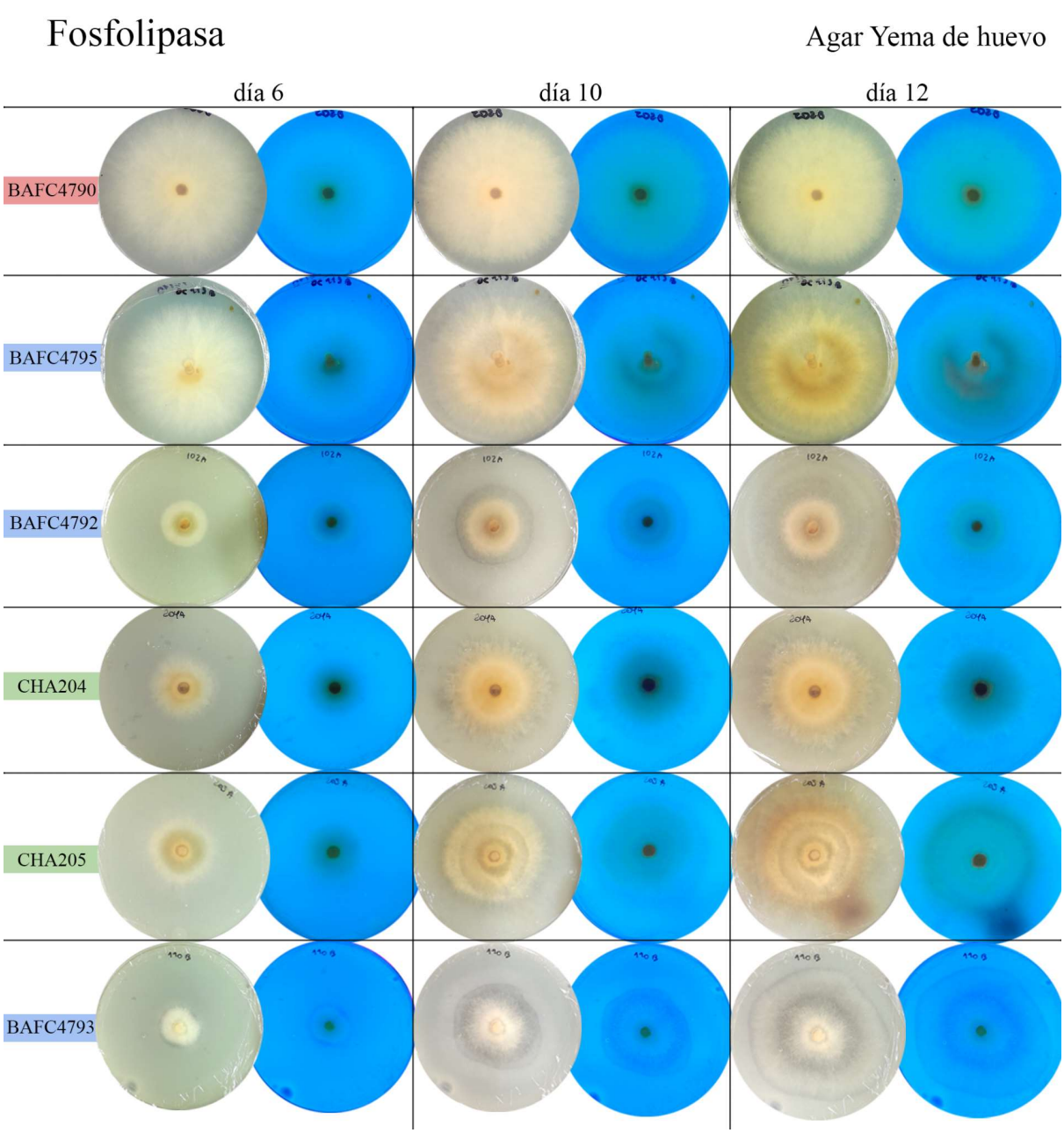

Figura 16: Aspecto de las placas en los siguientes días post inoculación para algunas cepas destacadas en el medio con yema de huevo.

3.1.5. Selección de cepas

Para la siguiente sección, se reunieron en la tabla 1 las cepas destacadas en los ensayos enzimáticos cualitativos. A partir de estas, se seleccionaron cinco, asegurando que haya al menos una por ecorregión.

Tabla 1: Resumen de cepas destacadas para la caracterización enzimática

Lacasa	BAFC 4797, BAFC 4795, BAFC 4794, CHA 204 y BAFC 4790
Manganeso peroxidasa	BAFC 4792, BAFC 4793, BAFC 4797 y CHA 204
Lignin peroxidasa	BAFC 4797, BAFC 4793, BAFC 4794, BAFC 4791 y CHA 204
Fosfolipasa	BAFC 4790, BAFC 4795, CHA 204 y CHA 205
Selección	BAFC 4790, BAFC 4792, BAFC 4793, BAFC 4797, CHA 204

3.2. Perfil de ácidos grasos

3.2.1. Curvas de crecimiento

En función de las cepas seleccionadas en la sección 3.1 se llevaron a cabo las curvas de crecimiento a partir del muestreo de biomasa micelial seca en el tiempo (Figura 17).

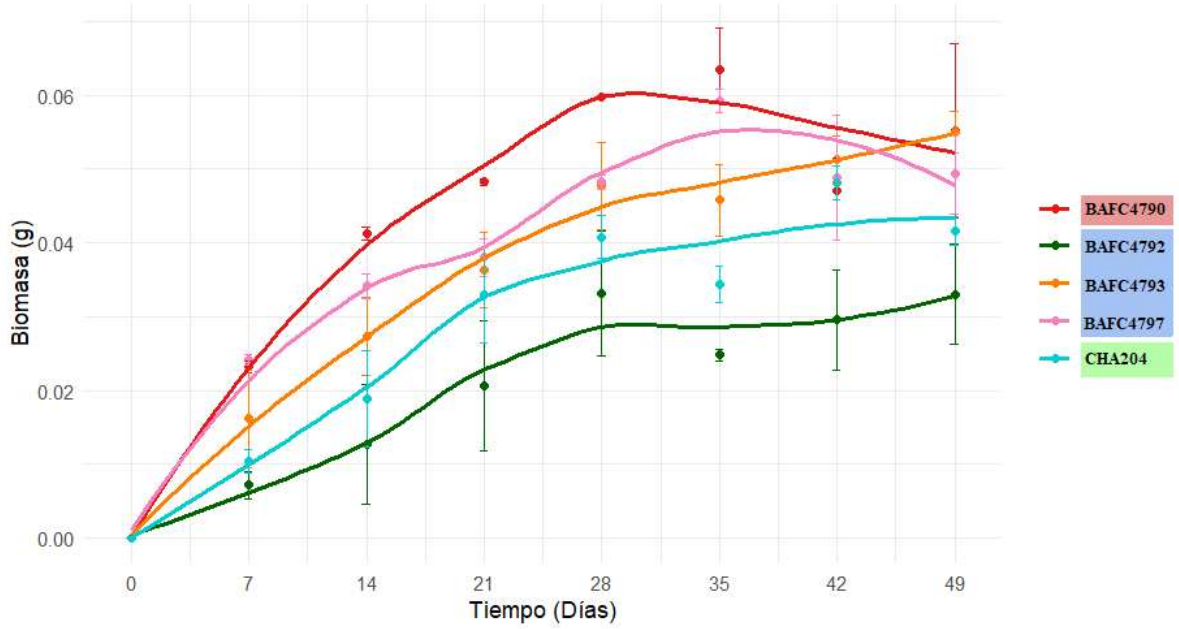

Figura 17: Curvas de crecimiento para las cepas seleccionadas.

A grandes rasgos, se obtuvieron curvas bastante diferentes para cada cepa, destacándose la BAFC 4790 del resto en tiempos cortos y medios, pero no teniendo diferencias entre los últimos dos puntos con las cepas BAFC 4793 y BAFC 4797.

A su vez, ninguna de las cepas cumple con el aspecto sigmoide típico esperado. En todas ellas, se observa una disminución en el valor de la biomasa aproximadamente al día 14-21, que luego es seguido por la continuación del aumento del crecimiento hasta los 35-42 días. Esto sugiere que habría dos fases estacionarias o "mesetas" en cada curva, como se observa más claramente en la cepa BAFC 4797 o BAFC 4792. Černá y Musílek (1966) y Musílek et al. (1969) han reportado resultados similares en curvas de *O. mucida*, mostrando una fase de declive aproximadamente en el mismo día que las cepas de *O canarii*, aunque en su estudio el experimento concluyó en ese punto. Resulta notable como al día 49 post inoculación algunas presentan una tendencia positiva de crecimiento y no entraron en fase de

declive aún, como es el caso de BAFC 4793. En base a esto se decidió analizar los perfiles de ácidos grasos en tres tiempos distintos: a los 15, 35 y 49 días.

Maziero et al. (1999) reportó mayor biomasa producida de *O. canarii* en un medio líquido compuesto por peptona, extracto de levadura, K_2HPO_4, $MgSO_4.7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$ y glucosa. A los 7 días, la biomasa seca alcanzó 13,40 g/L, mientras que para la cepa BAFC 4790 fue de 2,42 g/L en el mismo período. Estos resultados indican que sería conveniente realizar estudios adicionales para optimizar el medio de cultivo.

3.2.2. Análisis de FAMEs por CG

Los perfiles de ácidos grasos fueron similares para todas las cepas, mostrando diferencias en las proporciones de los mismos. Se realizaron comparaciones por tipo de ácido graso entre cepas para cada día por separado (Figuras 18, 19 y 20). La mayoría de estas comparaciones fueron no significativas, pero las que sí lo fueron presentaron dificultad para establecer grupos significativos por separado; es decir, en muchos casos el análisis estadístico determinó grupos intermedios (ej: ab, ac). La existencia de estos puede estar dada por la alta variabilidad entre muestras. Una posible solución podría ser aumentar el número de réplicas, pero también dicha variabilidad podría ser intrínseca de la especie, por lo que no es seguro.

Además de los ácidos grasos detallados en las figuras 18, 19 y 20, se detectaron trazas de ácidos grasos de cadena larga, como C20:1, C22:1 y C24:0, en varias de las muestras.

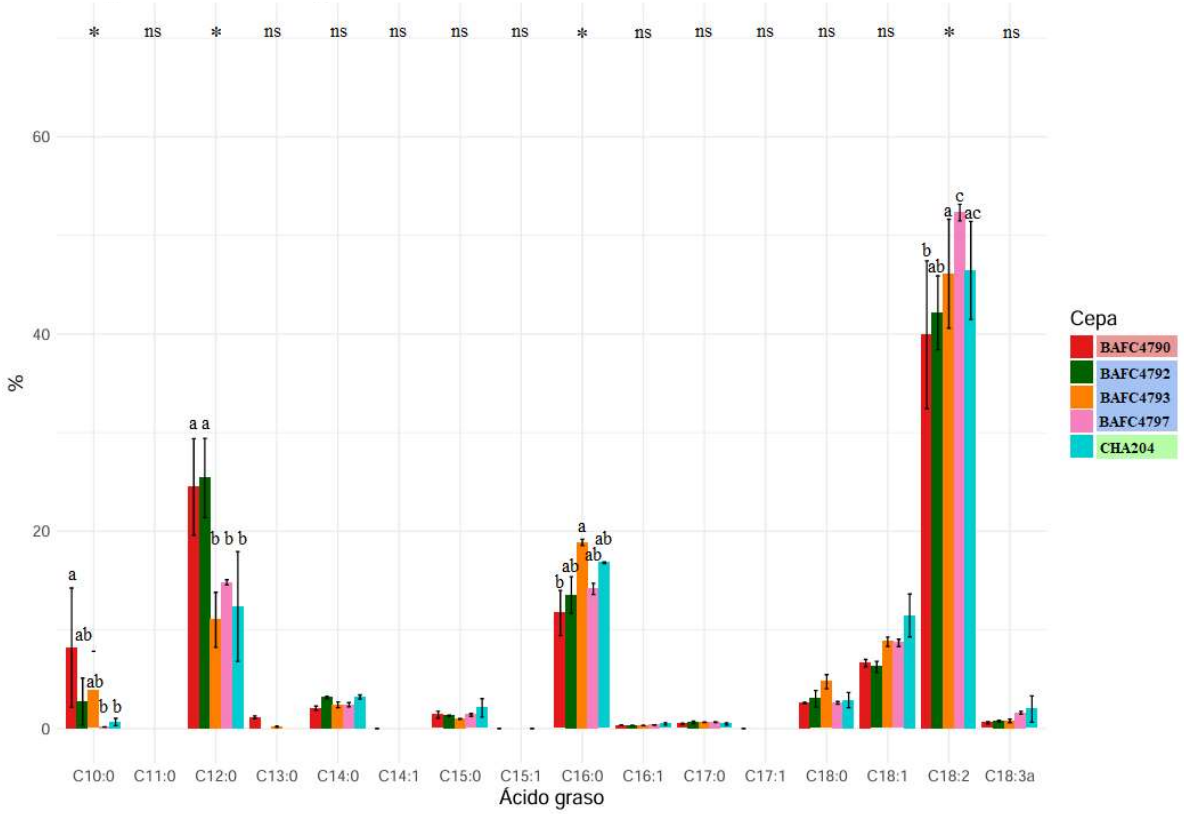

*Figura 18: Porcentaje relativo de ácido graso según cepa en el **día 15**. Resultados de ANOVA cepas/AG: (*) p-valor < 0,05; (ns) p-valor > 0,05. Clasificación de contrastes de Tukey en grupos (a, b, c, etc.).*

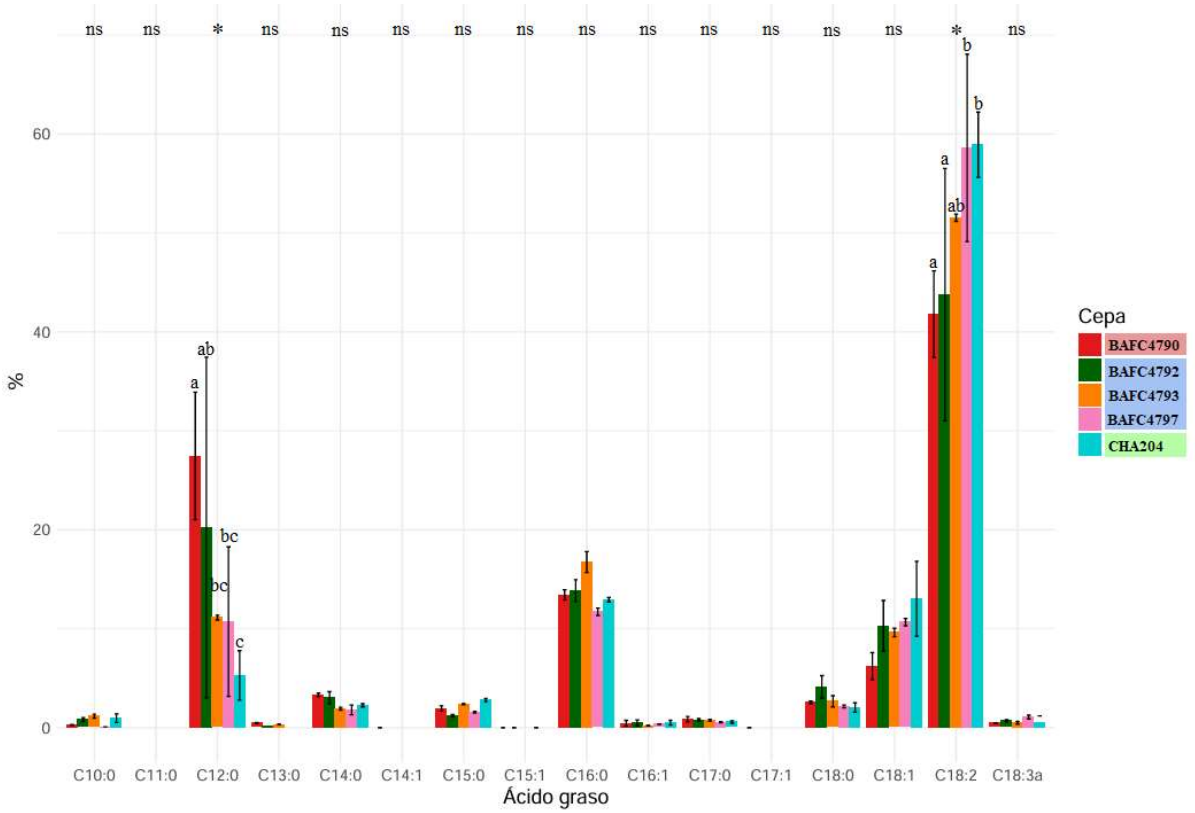

*Figura 19: Porcentaje relativo de ácido graso según cepa en el **día 35**. Resultados de ANOVA cepas/AG: (*) p-valor < 0,05; (ns) p-valor > 0,05. Clasificación de contrastes de Tukey en grupos (a, b, c, etc.).*

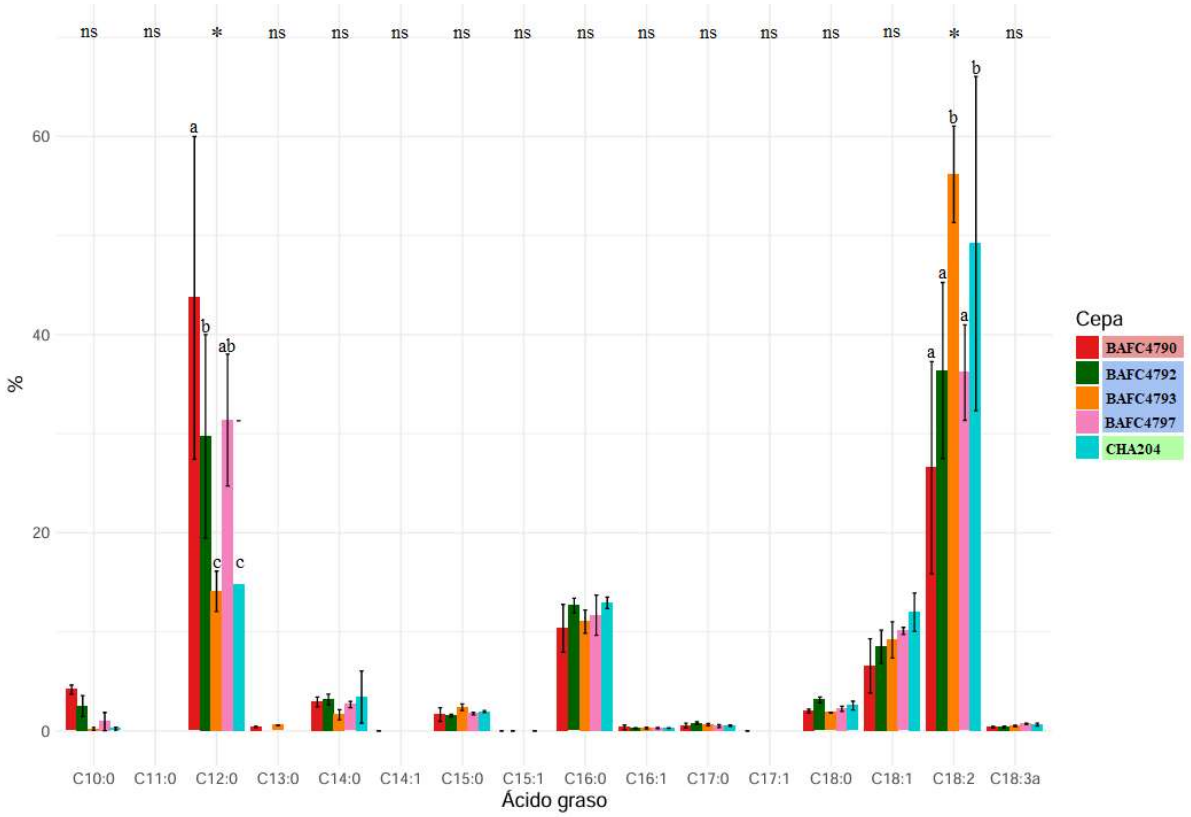

*Figura 20: Porcentaje relativo de ácido graso según cepa en el **día 49**. Resultados de ANOVA cepas/AG: (*) p-valor < 0,05; (ns) p-valor > 0,05. Clasificación de contrastes de Tukey en grupos (a, b, c, etc.).*

La figura 18 presenta el porcentaje relativo de ácidos grasos en el día 15. Los ácidos grasos más abundantes fueron: ácido linoleico (C18:2), ácido laúrico (C12:0) y ácido palmítico (C16:0), en los tres tiempos evaluados. Este último presentó diferencias significativas entre cepas sólo en el día 15.

El promedio entre las cinco cepas para los ác. grasos mayoritarios al día 15 es: 45,39 ± 5,83 para C18:2, 17,62 ± 7,09 para C12:0 y 15,01 ± 2,84 para C16:0.

Los ácidos grasos más abundantes en el basidioma de *O. canarii* de Alberti (2022) fueron ác. linoleico (49,68 ± 0,10%) y el ác. oleico (33,82 ± 0,09%); en menor medida: ác. palmítico (6,60 ± 0,25%), ác. α-linolénico (4,38 ± 0,02 %), ác. mirístico (2,95 ± 0,2%) y ác. esteárico (2,58 ± 0,48%), mientras que no se reportó la presencia de ácido laúrico. Estos resultados presentan diferencias notables con los obtenidos en esta tesis.

La alta proporción de ácido laúrico es un aspecto destacable, ya que en hongos del orden Agaricales comestibles su presencia en el basidioma suele ser muy baja, con valores

que, en general, oscilan entre 0,1 y 1 % en porcentaje relativo o se detecta sólo en trazas (Kalač, 2016). Dentro de la familia Physalacriaceae, se ha reportado aproximadamente 0,3 % y 0,4 % de ácido laúrico en el sombrero del basidioma de *Armillaria borealis* y *Armillaria cepistipes*, respectivamente; mientras que en *Flammulina velutipes* no se ha detectado (Bakanov et al., 2022). Dentro del género *Oudemansiella*, se ha registrado un 25,74 % de este ácido en el micelio de *O. mucida* (D. Xu et al., 2020); sin embargo, en el basidioma de *O. radicata* no se ha detectado (Yilmaz et al., 2006).

Todo lo mencionado anteriormente sugeriría al menos la posibilidad de que la presencia de ácido laúrico en las muestras de micelio de todas las cepas esté asociada al metabolismo de esta fase de crecimiento y que, en la etapa donde los basidiomas maduran y se cosechan, fase en la que se centran la mayoría de los estudios disponibles, su concentración disminuya o no sea detectada. No obstante, la falta de estudios centrados en el perfil de ácidos grasos de micelio de otras especies no permite sacar mayores conclusiones.

El hallazgo de ácido láurico en nuestras muestras es de gran interés debido a sus múltiples aplicaciones industriales. Este ácido graso es un componente clave en la industria farmacéutica y cosmética, donde se lo emplea como materia prima en la formulación de productos específicos gracias a su compatibilidad con distintos ingredientes (Kalustian, 1985; Dayrit, 2015; Zou et al., 2023).

Se realizó también un análisis estadístico de los ácidos grasos a lo largo de los tres tiempos evaluados para cada cepa por separado. Los contrastes de Tukey revelaron diferencias significativas en la evolución temporal de los ácidos grasos mayoritarios, C12:0 y C18:2, para todas las cepas, excepto para BAFC 4793, que solo mostró diferencias en C18:2, C10:0 y C16:0. Aunque los resultados no son completamente concluyentes debido a la variabilidad observada en las muestras, la tendencia general sugiere que el ácido C12:0 alcanza su máximo en el día 49, mientras que C18:2 lo alcanza en el día 35 y luego disminuye en el día 49. En consecuencia, la cepa que destaca en la producción de C12:0 al día 49 es BAFC 4790, seguida posiblemente por BAFC 4792, si se reduce la variabilidad y no se encuentran diferencias significativas con BAFC 4790 en estudios futuros. En el caso de C18:2 al día 35, las cepas destacadas son BAFC 4797 y CHA 204, y posiblemente BAFC 4793, siguiendo el mismo razonamiento expuesto previamente.

La figura 21 expone la sumatoria de los ác. grasos monoinsaturados (MUFA), poliinsaturados (PUFA) y saturados (SAFA), donde se compararon cada una de estas categorías entre cepas por cada día. El único análisis significativo fue en los SAFA en el día 35, siendo la cepa BAFC 4790 significativamente mayor que todas las cepas menos BAFC 4793.

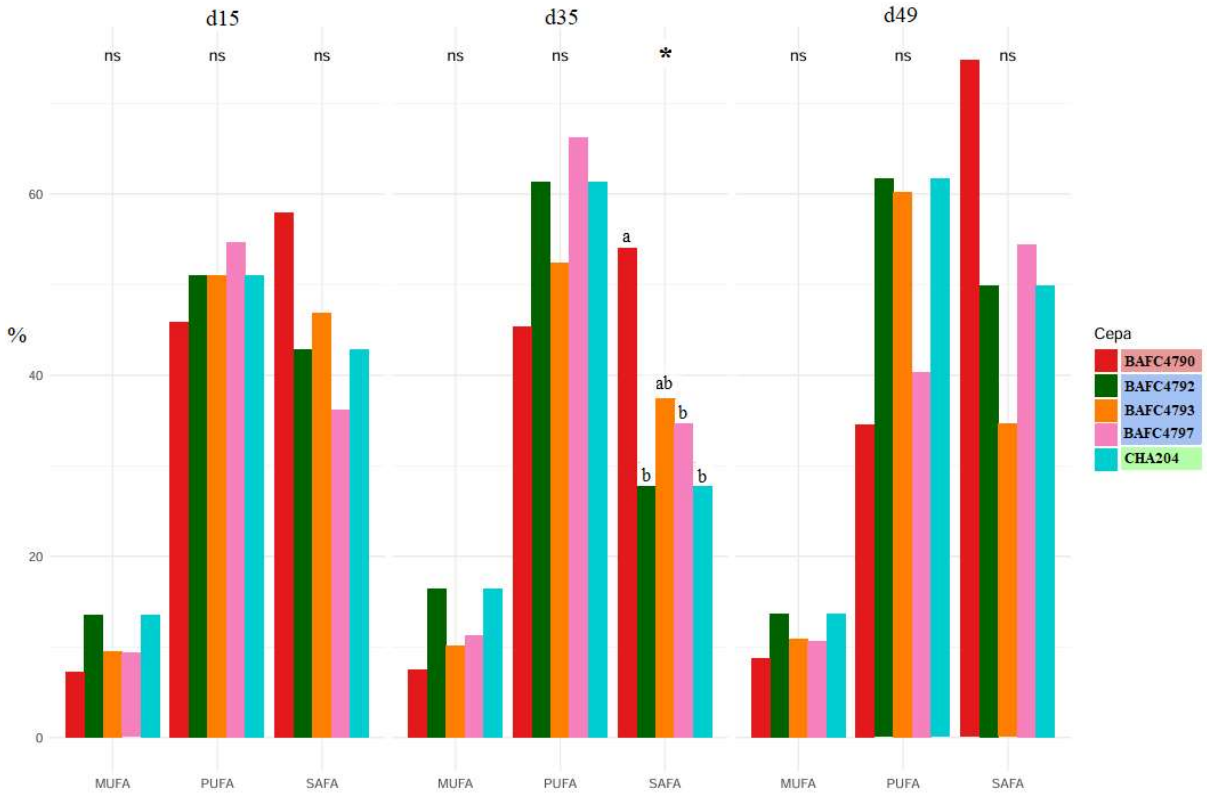

Figura 21: Total de AG agrupados por tipo. MUFA: Sumatoria de AG monoinsaturados. PUFA: Sumatoria de AG poliinsaturados. SAFA: Sumatoria de AG saturados. Resultados de ANOVA cepas/AG: (*) p-valor < 0,05; (ns) p-valor > 0,05. Clasificación de contrastes de Tukey en grupos.

Los resultados obtenidos muestran una alta proporción de ácidos grasos insaturados, lo que concuerda con estudios previos en hongos, donde estos compuestos suelen ser predominantes en su perfil lipídico (Pedneault et al., 2008). De manera similar, en otros hongos Basidiomycota se ha observado que el ácido linoleico es el más abundante dentro de su composición lipídica (Senatore et al., 1988; Badalyan, 2016), que se traduce en consecuencia con una alta presencia de ácidos grasos insaturados (Abugri et al., 2016). Los resultados de esta tesis refuerzan esta tendencia.

3.2.3 Relación ω6/ω3

La bibliografía establece que una relación elevada de ácidos grasos omega-6/omega-3, como 15:1, se asocia con un mayor riesgo de enfermedades inflamatorias, cardiovasculares y cáncer (Sanhueza Catalán et al., 2015). Estudios en cerdos indican que relaciones más equilibradas, entre 1:1 y 5:1, favorecen un mejor metabolismo y una mayor actividad antiinflamatoria, evidenciada por niveles regulados de adiponectina, leptina e interleucinas. En nuestras cepas, la relación ω-6/ω-3 fue en muchos casos superior a lo recomendable, con una alta variabilidad entre cepas y tiempos evaluados (23-110), lo que impide obtener conclusiones definitivas. Si el análisis estuviera enfocado en basidiomas comestibles, este aspecto sería relevante desde el punto de vista nutricional. Sin embargo, dado que el micelio no es un alimento, la producción de biomasa a nivel industrial se orientaría más a la obtención de ácidos grasos, en este caso en particular, enriquecido en ácido láurico.

4. Conclusiones

- Se lograron caracterizar cualitativamente las enzimas de interés biotecnológico y seleccionar candidatos para futuros estudios a nivel cuantitativo. Los resultados sugieren que todas las cepas poseen la enzima lacasa, que la mayoría posee las enzimas manganeso peroxidasa y lignin peroxidasa, y que algunas presentan potencialmente la enzima fosfolipasa.
- Las cepas destacadas por su actividad enzimática por cada ecorregión fueron: BAFC 4790 de la Yunga, BAFC 4797 para la Pampa y CHA 204 para la Selva Paranaense.
- La caracterización de la diversidad enzimática de las cepas analizadas proporciona una base para seleccionar organismos con alto potencial biotecnológico. Las cepas destacadas podrían ser evaluadas en estudios cuantitativos para optimizar su uso en aplicaciones industriales y ambientales.
- Se analizó por primera vez el perfil de ácidos grasos del micelio de *O. canarii* y se realizaron comparaciones entre cinco cepas. Los ácidos grasos mayoritarios fueron el ácido láurico y el ácido linoleico en la mayoría de las cepas. La cepa yungueña BAFC 4790 fue la destacada para la producción de ácido láurico en el día 49, y la cepa paranaense CHA 204 y la pampeana BAFC 4797 sobresalieron en la producción de ácido linoleico en el día 35.
- Se detectó una alta proporción de ácido láurico (C12:0) en el micelio de todas las cepas estudiadas, un hallazgo inusual en hongos agaricales comestibles. La presencia de ácido láurico en el micelio sugiere que su acumulación podría estar asociada al metabolismo de esta fase de crecimiento, en contraste con su ausencia o bajos niveles en basidiomas maduros. Sin embargo, la falta de estudios sobre perfiles de ácidos grasos en micelio de otras especies limita la posibilidad de establecer conclusiones definitivas.
- La alta proporción de ácidos grasos insaturados en nuestras muestras es consistente con lo reportado en otros hongos Basidiomycota, lo que sugiere que esta característica es común dentro del grupo.

5. Bibliografía

Abugri, D., McElhenney, W., y Willian, K. (2016). Fatty Acid Profiling in Selected Cultivated Edible and Wild Medicinal Mushrooms in Southern United States. *Journal of Experimental Food Chemistry*, *2*. https://doi.org/10.4172/jefc.1000108

Ainsworth, G. C., y Bisby, G. R. (2011). *Dictionary of the fungi* (P. M. Kirk, Ed.; 10. ed.). CABI Publishing.

Alberti, M. M. (2022). *Determinación de los parámetros de cultivo para la producción intensiva de hongos comestibles del género* Oudemansiella *(Basidiomicetes): Aportes nutricionales, nutracéuticos y enzimaticos.* [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de San Martín. Escuela de Bio y Nanotecnologías. Instituto Tecnológico de Chascomús - INTECH.]. http://ri.unsam.edu.ar/handle/123456789/1951

Alberti, M. M., Niveiro, N., Zied, D. C., y Albertó, E. (2020). Identification of *Oudemansiella canarii* and *O. cubensis* (Basidiomycota, Physalacriaceae) in Argentina Using Morphological, Culture and Molecular Analysis. *Harvard Papers in Botany*, *25*(2), 131-143. https://doi.org/10.3100/hpib.v25iss2.2020.n1

Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., y Blackwell, M. (1996). *Introductory mycology* (4th ed). Wiley.

Ali, J., Sharma, D. C., Bano, A., Gupta, A., Sharma, S., Bajpai, P., y Pathak, N. (2019). Exploiting Microbial Enzymes for Augmenting Crop Production. En *Enzymes in Food Biotechnology* (pp. 503-519). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00029-3

Alves, M. J., Ferreira, I. C. F. R., Dias, J., Teixeira, V., Martins, A., y Pintado, M. (2013). A Review on Antifungal Activity of Mushroom (Basidiomycetes) Extracts and Isolated Compounds. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *13*(21), 2648-2659.

https://doi.org/10.2174/15680266113136660191

Anzaku, A. A., Akyala, J. I., Juliet, A., y Obianuju, E. C. (2017). Antibacterial Activity of Lauric Acid on Some Selected Clinical Isolates. *Annals of Clinical and Laboratory Research*, *05*(02). https://doi.org/10.21767/2386-5180.1000170

Arana, M. D., Martínez, G. A., Oggero, A. J., Natale, E. S., y Morrone, J. J. (2017). Map and shapefile of the biogeographic provinces of Argentina. *Zootaxa*, *4341*(3). https://doi.org/10.11646/zootaxa.4341.3.6

Arantes, V., y Milagres, A. M. F. (2007). The synergistic action of ligninolytic enzymes (MnP and Laccase) and Fe3+-reducing activity from white-rot fungi for degradation of Azure B. *Enzyme and Microbial Technology*, *42*(1), 17-22. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.07.017

Archibald, F. S. (1992). A new assay for lignin-type peroxidases employing the dye Azure B. *Applied and Environmental Microbiology*, *58*(9), 3110-3116. https://doi.org/10.1128/aem.58.9.3110-3116.1992

Arora, S. D., y Gill, P. K. (2001). Comparison of two assay procedures for lignin peroxidase. *Enzyme and Microbial Technology*, *28*(7-8), 602-605. https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00302-7

Arora, S. D., y Sharma, K. R. (2010). Ligninolytic Fungal Laccases and Their Biotechnological Applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *160*(6), 1760-1788. https://doi.org/10.1007/s12010-009-8676-y

Asgher, M., Ramzan, M., y Bilal, M. (2016). Purification and characterization of manganese peroxidases from native and mutant Trametes versicolor IBL-04. *Chinese Journal of Catalysis*, *37*(4), 561-570. https://doi.org/10.1016/S1872-2067(15)61044-0

Badalyan, S. M. (2016). Fatty Acid Composition of Different Collections of Coprinoid

Mushrooms (Agaricomycetes) and Their Nutritional and Medicinal Values. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, *18*(10), 883-893. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v18.i10.40

Bakanov, V. V., Vedernikov, D. N., Kruchina-Bogdanov, I. V., y Eltsova, L. S. (2022). Extractive substances of saprotrophic mushrooms: *Flammulina velutipes*, *Hypholoma capnoides*, *Armillaria borealis*, *Armillaria cepistipes*. Heavy metal content. *chemistry of plant raw material*, *3*, 257-262. https://doi.org/10.14258/jcprm.20220310984

Bánki, O., Roskov, Y., Döring, M., Ower, G., Hernández Robles, D. R., Plata Corredor, C. A., Stjernegaard Jeppesen, T., Örn, A., Pape, T., Hobern, D., Garnett, S., Little, H., DeWalt, R. E., Ma, K., Miller, J., Orrell, T., Aalbu, R., Abbott, J., Aedo, C., … World Flora Online. (2025). *Catalogue of Life* (Versión 2025-01-17). Catalogue of Life. https://doi.org/10.48580/dgmv5

Bansal, N., y Kanwar, S. S. (2013). Peroxidase(s) in Environment Protection. *The Scientific World Journal*, *2013*(1), 714639. https://doi.org/10.1155/2013/714639

Barman, A., Gohain, D., Bora, U., y Tamuli, R. (2018). Phospholipases play multiple cellular roles including growth, stress tolerance, sexual development, and virulence in fungi. *Microbiological Research*, *209*, 55-69. https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.12.012

Benavides, V., Ciudad, G., Pinto-Ibieta, F., Robledo, T., Rubilar, O., y Serrano, A. (2024). Enhancing laccase and manganese peroxidase activity in White-rot fungi: The role of copper, manganese, and lignocellulosic substrates. *Agronomy*, *14*(11), 2562. https://doi.org/10.3390/agronomy14112562

Betts, W. B., y King, J. E. (1991). Oxidative coupling of 2,6-dimethoxyphenol by fungi and bacteria. *Mycological Research*, *95*(5), 526-530. https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80063-4

Bezerra, T. M. D. S., Bassan, J. C., Santos, V. T. D. O., Ferraz, A., y Monti, R. (2015). Covalent immobilization of laccase in green coconut fiber and use in clarification of apple juice. *Process Biochemistry*, *50*(3), 417-423. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.12.009

Bilal, M., Zdarta, J., Jesionowski, T., y Iqbal, H. M. N. (2023). Manganese peroxidases as robust biocatalytic tool—An overview of sources, immobilization, and biotechnological applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *234*, 123531. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123531

Borrelli, G., y Trono, D. (2015). Recombinant Lipases and Phospholipases and Their Use as Biocatalysts for Industrial Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(9), 20774-20840. https://doi.org/10.3390/ijms160920774

Burkart, R., Bárbaro, N. O., Sánchez, R. O., y Gómez, D. A. (1999). *Eco-regiones de la Argentina*. Presidencia de la Nación-Secretaría de Recursos Naturales y Desarrollo.

Byelashov, O. A., Sinclair, A. J., y Kaur, G. (2015). Dietary sources, current intakes, and nutritional role of omega-3 docosapentaenoic acid. *Lipid Technology*, *27*(4), 79-82. https://doi.org/10.1002/lite.201500013

Cameron, M. D., Timofeevski, S., y Aust, S. D. (2000). Enzymology of *Phanerochaete chrysosporium* with respect to the degradation of recalcitrant compounds and xenobiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *54*(6), 751-758. https://doi.org/10.1007/s002530000459

Cepero de García, M. C., Restrepo Restrepo, S., y Franco-Molano, A. E. (Eds.). (2012). *Biología de hongos* (1. ed). Universidad de los Andes.

Cerminati, S., Paoletti, L., Aguirre, A., Peirú, S., Menzella, H. G., y Castelli, M. E. (2019). Industrial uses of phospholipases: Current state and future applications. *Applied*

Microbiology and Biotechnology, *103*(6), 2571-2582. https://doi.org/10.1007/s00253-019-09658-6

Černá, J., y Musílek, V. (1966). Enzymatic activity in basidiomycetes. *Folia Microbiologica*, *12*(6), 508-514. https://doi.org/10.1007/BF02875712

Chaurasia, P. K., y Bharati, S. L. (2017). Chapter 11—Significance of Laccases in Food Chemistry and Related Bioremediation. En A. M. Grumezescu y A. M. Holban (Eds.), *Soft Chemistry and Food Fermentation* (pp. 299-335). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811412-4.00011-4

Cohen, R., Persky, L., y Hadar, Y. (2002). Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *58*(5), 582-594. https://doi.org/10.1007/s00253-002-0930-y

Connor, W. E. (2000). Importance of n−3 fatty acids in health and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *71*(1), 171S-175S. https://doi.org/10.1093/ajcn/71.1.171S

Dayrit, F. M. (2015). The Properties of Lauric Acid and Their Significance in Coconut Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *92*(1), 1-15. https://doi.org/10.1007/s11746-014-2562-7

De Maria, L., Vind, J., Oxenbøll, K. M., Svendsen, A., y Patkar, S. (2007). Phospholipases and their industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *74*(2), 290-300. https://doi.org/10.1007/s00253-006-0775-x

De Oliveira Vieira, V., Conceição, A. A., De Oliveira Gorgulho Silva, C., Romero-Pelaez, R. D., Junior, M. L., Abdelnur, P. V., De Almeida, J. R. M., Almeida, E. G., y De Siqueira, F. G. (2021). Characterization of extracellular secondary metabolites in *Oudemansiella canarii* BRM-044600 displaying antifungal activity against the

phytopathogen Sclerotinia sclerotiorum. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *37*(12), 203. https://doi.org/10.1007/s11274-021-03172-6

Dippe, M., y Ulbrich-Hofmann, R. (2011). Phospholipid acylhydrolases trigger membrane degradation during fungal sporogenesis. *Fungal Genetics and Biology*, *48*(9), 921-927. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2011.05.008

Djordjevic, J. (2010). Role of Phospholipases in Fungal Fitness, Pathogenicity, and Drug Development – Lessons from *Cryptococcus neoformans*. *Frontiers in Microbiology*, *1*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2010.00125

Dulay, R. M. R. (2023). *Oudemansiella* (Physalacriaceae) mushrooms: A status review on the distribution, cultivation, composition and bioactivity profile. *Studies in Fungi*, *8*(1), 0-0. https://doi.org/10.48130/SIF-2023-0013

Dulay, R. M. R., y Damaso, E. J. (2017). The first report on the successful rescue and domestication of philippine wild mushroom *Oudemansiella canarii* (BIL 9137). *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences (IJBPAS)*, *6*(12), 2359-2369.

Dulay, R. M. R., Valdez, B. C., Chakrabarti, S., Dhillon, B., Cabrera, E. C., Kalaw, S. P., y Reyes, R. G. (2022). Cytotoxicity of Medicinal Mushrooms *Oudemansiella canarii* and *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes) Against Hematologic Malignant Cells via Activation of Apoptosis-Related Markers. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, *24*(11). https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2022045306

Eriksson, K. E. L., y Bermek, H. (2009). Lignin, Lignocellulose, Ligninase. En M. Schaechter (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)* (pp. 373-384). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00152-8

Essawy, A. E., Jimmiey, E. M., Abdel-Wahab, W. M., Ali, R. G., Eweda, S. M., y Abdou, H.

M. (2025). The protective efficacy of omega-3 polyunsaturated fatty acids on oxidative stress, inflammation, neurotransmitter perturbations, and apoptosis induced by monosodium glutamate in the brain of male rats. *Metabolic Brain Disease*, *40*(1), 114. https://doi.org/10.1007/s11011-025-01539-4

Fetterman, J. W., y Zdanowicz, M. M. (2009). Therapeutic potential of n-3 polyunsaturated fatty acids in disease. *American Journal of Health-System Pharmacy*, *66*(13), 1169-1179. https://doi.org/10.2146/ajhp080411

Folch, J., Lees, M., y Sloane Sranley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, *226*(1), 497-509.

Fonseca, M. I., Zapata, P. D., Villalba, L. L., y Fariña, J. I. (2014). Characterization of the oxidative enzyme potential in wild white rot fungi from Misiones (Argentina). *Acta Biológica Colombiana*, *20*(1), 47-56. https://doi.org/10.15446/abc.v20n1.38322

Gadd, G. M. (Ed.). (2001). *Fungi in bioremediation* (Vol. 23). British Mycological Society, Cambridge University Press.

Gao, Y., Shah, K., Kwok, I., Wang, M., Rome, L. H., y Mahendra, S. (2022). Immobilized fungal enzymes: Innovations and potential applications in biodegradation and biosynthesis. *Biotechnology Advances*, *57*, 107936. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107936

Gold, M. H., Glenn, J. K., y Alic, M. (1988). Use of polymeric dyes in lignin biodegradation assays. En *Methods in Enzymology* (Vol. 161, pp. 74-78). Academic Press. https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)61011-1

Gush, L., Shah, S., y Gilani, F. (2021). Macronutrients and micronutrients. En *A Prescription for Healthy Living* (pp. 255-273). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-

821573-9.00023-0

Hamid, M. y Khalil-ur-Rehman. (2009). Potential applications of peroxidases. *Food Chemistry*, *115*(4), 1177-1186. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.035

Hammad, S., Pu, S., y Jones, P. J. (2016). Current Evidence Supporting the Link Between Dietary Fatty Acids and Cardiovascular Disease. *Lipids*, *51*(5), 507-517. https://doi.org/10.1007/s11745-015-4113-x

Hofrichter, M. (2002). Review: Lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology*, *30*(4), 454-466. https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00528-2

Iark, D., Buzzo, A. J. dos R., Garcia, J. A. A., Côrrea, V. G., Helm, C. V., Corrêa, R. C. G., Peralta, R. A., Peralta Muniz Moreira, R. de F., Bracht, A., y Peralta, R. M. (2019). Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from *Oudemansiella canarii*. *Bioresource Technology*, *289*, 121655. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121655

Innis, S. M. (1991). Essential fatty acids in growth and development. *Progress in Lipid Research*, *30*(1), 39-103. https://doi.org/10.1016/0163-7827(91)90006-Q

Jain, C., Das, S., Saha, R., Ramachandran, V., Bhattacharya, S., y Dar, S. (2017). Detection of phospholipase production by egg Yolk-Agar in *Malassezia* isolates from diseased and healthy human host. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 1. https://doi.org/10.5455/ijmsph.2017.1267623012017

Janusz, G., Kucharzyk, K. H., Pawlik, A., Staszczak, M., y Paszczynski, A. J. (2013). Fungal laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase: Gene expression and regulation. *Enzyme and Microbial Technology*, *52*(1), 1-12. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2012.10.003

Kalač, P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*, *113*(1), 9-16. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.077

Kalač, P. (2016). *Edible Mushrooms: Chemical Composition and Nutritional Value*. Academic Press. https://books.google.com.ar/books?id=_PMqCgAAQBAJ

Kalichman, J., Kirk, P. M., y Matheny, P. B. (2020). A compendium of generic names of agarics and Agaricales. *TAXON*, *69*(3), 425-447. https://doi.org/10.1002/tax.12240

Kalustian, P. (1985). Pharmaceutical and cosmetic uses of palm and lauric products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *62*(2), 431-433. https://doi.org/10.1007/BF02541417

Kavishree, S., Hemavathy, J., Lokesh, B. R., Shashirekha, M. N., y Rajarathnam, S. (2008). Fat and fatty acids of Indian edible mushrooms. *Food Chemistry*, *106*(2), 597-602. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.018

Kawasaki, H., Shimanouchi, T., y Kimura, Y. (2019). Recent Development of Optimization of Lyophilization Process. *Journal of Chemistry*, *2019*, 1-14. https://doi.org/10.1155/2019/9502856

Kumar, A. (2021). Biobleaching: An eco-friendly approach to reduce chemical consumption and pollutants generation. *Physical Sciences Reviews*, *6*(4), 20190044. https://doi.org/10.1515/psr-2019-0044

Kumla, J., Suwannarach, N., Sujarit, K., Penkhrue, W., Kakumyan, P., Jatuwong, K., Vadthanarat, S., y Lumyong, S. (2020). Cultivation of Mushrooms and Their Lignocellulolytic Enzyme Production Through the Utilization of Agro-Industrial Waste. *Molecules*, *25*(12), 2811. https://doi.org/10.3390/molecules25122811

Levin, L., Papinutti, L., y Forchiassin, F. (2004). Evaluation of Argentinean white rot fungi

for their ability to produce lignin-modifying enzymes and decolorize industrial dyes. *Bioresource Technology*, *94*(2), 169-176. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.12.002

Li, G., Wang, Y., Zhu, P., Zhao, G., Liu, C., y Zhao, H. (2022). Functional Characterization of Laccase Isozyme (PoLcc1) from the Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus* Involved in Lignin Degradation in Cotton Straw. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(21), Article 21. https://doi.org/10.3390/ijms232113545

Lonon, M. K., Woods, D. E., y Straus, D. C. (1988). Production of lipase by clinical isolates of Pseudomonas cepacia. *Journal of Clinical Microbiology*, *26*(5), 979-984. https://doi.org/10.1128/jcm.26.5.979-984.1988

López-Peña, D., Gutiérrez, A., y Esqueda, M. (2013). Cinética de crecimiento y composición química del micelio de Lentinula edodes cultivado en medio líquido suplementado con extractos de madera de vid. *Revista mexicana de micología*, *37*, 51-59.

Loveland, T. R., y Merchant, J. M. (2004). Ecoregions and Ecoregionalization: Geographical and Ecological Perspectives. *Environmental Management*, *34*(S1), S1-S13. https://doi.org/10.1007/s00267-003-5181-x

Makhutova, O. N., Burlakova, L., y Karatayev, A. (2025). Assessment of omega-3 PUFA reserves in the quagga mussel of Lake Ontario, with a special focus on its diet. *Inland Waters*, 1-58. https://doi.org/10.1080/20442041.2025.2483570

Malhotra, S. P. K., y Alghuthaymi, M. A. (2022). Chapter 6—Biomolecule-assisted biogenic synthesis of metallic nanoparticles. En K. A. Abd-Elsalam, R. Periakaruppan, y S. Rajeshkumar (Eds.), *Agri-Waste and Microbes for Production of Sustainable Nanomaterials* (pp. 139-163). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823575-1.00011-1

Martínez, Á. T., Speranza, M., Ruiz-Dueñas, F. J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillén, F., Martínez, M. J., Gutiérrez Suárez, A., y Río Andrade, J. C. del. (2005). *Biodegradation of lignocellulosics: Microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin*.

Matsue, M., Mori, Y., Nagase, S., Sugiyama, Y., Hirano, R., Ogai, K., Ogura, K., Kurihara, S., y Okamoto, S. (2019). Measuring the Antimicrobial Activity of Lauric Acid against Various Bacteria in Human Gut Microbiota Using a New Method. *Cell Transplantation*, *28*(12), 1528-1541. https://doi.org/10.1177/0963689719881366

Maziero, R., Cavazzoni, V., y Bononi, V. L. R. (1999). Screening of basidiomycetes for the production of exopolysaccharide and biomass in submerged culture. *Revista de Microbiologia*, *30*(1), 77-84. https://doi.org/10.1590/S0001-37141999000100015

Mester, T., Varela, E., y Tien, M. (2004). Wood Degradation by Brown-Rot and White-Rot Fungi. En U. Kück (Ed.), *Genetics and Biotechnology* (pp. 355-368). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-07426-8_17

Minussi, R. C., Pastore, G. M., y Durán, N. (2002). Potential applications of laccase in the food industry. *Trends in Food Science y Technology*, *13*(6-7), 205-216. https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00155-3

Molano, A. E. F., Arboleda Echavarria, C., Mejia Gallón, A. I., Jiménez Tobón, G. A., y Penninckx, M. J. (2008). *Autochthonous white rot fungi from the tropical forest of Colombia for dye decolourisation and ligninolytic enzymes production*. https://hdl.handle.net/10495/38813

Money, N. P. (2016). Fungi and Biotechnology. En *The Fungi* (pp. 401-424). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382034-1.00012-8

Musílek, V., Černá, J., Šašek, V., Semerdžieva, M., y Vondráček, M. (1969). Antifungal

antibiotic of the basidiomycete *Oudemansiella mucida*. *Folia Microbiologica*, *14*(4), 377-387. https://doi.org/10.1007/BF02872707

Muszyńska, B., Grzywacz-Kisielewska, A., Kała, K., y Gdula-Argasińska, J. (2018). Anti-inflammatory properties of edible mushrooms: A review. *Food Chemistry*, *243*, 373-381. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.149

Nagy, K., y Tiuca, I.-D. (2017). Importance of Fatty Acids in Physiopathology of Human Body. En A. Catala (Ed.), *Fatty Acids*. InTech. https://doi.org/10.5772/67407

Niego, A. G., Raspé, O., Thongklang, N., Charoensup, R., Lumyong, S., Stadler, M., y Hyde, K. D. (2021). Taxonomy, Diversity and Cultivation of the Oudemansielloid/Xeruloid Taxa Hymenopellis, Mucidula, Oudemansiella, and Xerula with Respect to Their Bioactivities: A Review. *Journal of Fungi*, *7*(1), Article 1. https://doi.org/10.3390/jof7010051

Nitbani, F. O., Jumina, Siswanta, D., y Solikhah, E. N. (2016). Isolation and Antibacterial Activity Test of Lauric Acid from Crude Coconut Oil (Cocos nucifera L.). *Procedia Chemistry*, *18*, 132-140. https://doi.org/10.1016/j.proche.2016.01.021

Okino, L. K., Machado, K. M. G., Fabris, C., y Bononi, V. L. R. (2000). Ligninolytic activity of tropical rainforest basidiomycetes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *16*(8/9), 889-893. https://doi.org/10.1023/A:1008983616033

Park, K. H., Kim, C., Kim, M., Kim, N. K., Park, J. Y., Eimes, J. A., Cho, H. J., Han, S.-K., y Lim, Y. W. (2017). Three New Recorded Species of the Physalacriaceae on Ulleung Island, Korea. *Mycobiology*, *45*(1), 9-14. https://doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.1.9

Paszczyński, A., Crawford, R. L., y Huynh, V.-B. (1988). Manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: Purification. En *Methods in Enzymology* (Vol. 161, pp. 264-270). Elsevier. https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)61028-7

Pedneault, K., Angers, P., Gosselin, A., y Tweddell, R. J. (2008). Fatty acid profiles of polar and neutral lipids of ten species of higher basidiomycetes indigenous to eastern Canada. *Mycological Research*, *112*(12), 1428-1434. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.06.026

Petersen, R., y Hughes, K. (2010). The Xerula/Oudemansiella Complex (Agaricales) Introduction. *Nova Hedwigia*, 9-615.

Phyo Wai, K., Nway Oo, W. N., y Thazin Shwe, M. (2016). Screening on Lipase-producing Bacteria Isolated from Oil Mill Soil. *5th International Conference on Food, Agricultural and Biological Sciences (ICFABS-2016) Dec. 25-26, 2016 Bangkok (Thailand)*. 5th International Conference on Food, Agricultural and Biological Sciences. https://doi.org/10.17758/URUAE.AE1216214

Pointing, S. (1999). Qualitative methods for the determination of lignocellulolytic enzyme production by tropical fungi. *Fungal Diversity*, *2*.

Postemsky, P. D., y Curvetto, N. R. (2016). In Vitro Studies of Secondary Metabolite-Related Responses in Some Species of Genus Grifola (Agaricomycetes) from Argentina. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, *18*(4), 355-363. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v18.i4.90

Price, M. F., Wilkinson, I. D., y Gentry, L. O. (1982). Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Medical Mycology*, *20*(1), 7-14. https://doi.org/10.1080/00362178285380031

R Core Team. (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. httpswww.R-project.org

Rao, R. G., Ravichandran, A., Kandalam, G., Samanta, A. K., Swaraj, S., y Sridhar, M. (2019). Screening of Wild Basidiomycetes and Evaluation of the Biodegradation

Potential of Dyes and Lignin by Manganese Peroxidases. *BioResources*, *14*, 6558-6576. https://doi.org/10.15376/biores.14.3.6558-6576

Rathore, H., Prasad, S., y Sharma, S. (2017). Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. *PharmaNutrition*, *5*(2), 35-46. https://doi.org/10.1016/j.phanu.2017.02.001

Rosa, L. H., Cota, B. B., Machado, K. M. G., Rosa, C. A., y Zani, C. L. (2005). Antifungal and other Biological Activities from *Oudemansiella canarii* (Basidiomycota). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *21*(6), 983-987. https://doi.org/10.1007/s11274-004-7553-7

Saini, R. K., y Keum, Y.-S. (2018). Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — A review. *Life Sciences*, *203*, 255-267. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.04.049

Salter, A. M. (2013). Dietary fatty acids and cardiovascular disease. *Animal*, *7*, 163-171. https://doi.org/10.1017/S1751731111002023

Sanhueza Catalán, J., Durán Agüero, S., y Torres Garcia, J. (2015). Los ácidos grasos dietarios y su relación con la salud. *Nutrición Hospitalaria*, *3*, 1362-1375. https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.3.9276

Savarino, G., Corsello, A., y Corsello, G. (2021). Macronutrient balance and micronutrient amounts through growth and development. *Italian Journal of Pediatrics*, *47*(1), 109. https://doi.org/10.1186/s13052-021-01061-0

Schultz, T. P., Militz, H., Freeman, M. H., Goodell, B., y Nicholas, D. D. (Eds.). (2008). *Development of Commercial Wood Preservatives: Efficacy, Environmental, and Health Issues* (Vol. 982). American Chemical Society. https://doi.org/10.1021/bk-2008-0982

Senatore, F., Dini, A., Marino, A., y Schettino, O. (1988). Chemical constituents of some basidiomycetes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *45*(4), 337-345. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740450408

Sharan, A. A., Bellemare, A., DiFalco, M., Tsang, A., Vuong, T. V., Edwards, E. A., y Master, E. R. (2024). Functional screening pipeline to uncover laccase-like multicopper oxidase enzymes that transform industrial lignins. *Bioresource Technology*, *393*, 130084. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.130084

Silveira, R., Tauk, T., Bononi, V., y Capelari, M. (2001). Cultivation of the edible mushroom *Oudemansiella canarii* (Jungh.) Höhn. In lignocellulosic substrates. *Brazilian Journal of Microbiology*, *32*. https://doi.org/10.1590/S1517-83822001000300009

Simopoulos, A. P. (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *70*(3), 560S-569S. https://doi.org/10.1093/ajcn/70.3.560s

Singh, D., y Gupta, N. (2020). Microbial Laccase: A robust enzyme and its industrial applications. *Biologia*, *75*(8), 1183-1193. https://doi.org/10.2478/s11756-019-00414-9

Singhania, R. R., Patel, A. K., Raj, T., Chen, C.-W., Ponnusamy, V. K., Tahir, N., Kim, S.-H., y Dong, C.-D. (2022). Lignin valorisation via enzymes: A sustainable approach. *Fuel*, *311*, 122608. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122608

Stadnik, M. J., y Bettiol, W. (2007). Association between lipoxygenase and peroxidase activity and systemic protection of cucumber plants against *Podosphaera xanthii* induced by *Oudemansiella canarii* extracts. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *114*(1), 9-13. JSTOR.

Taiz, L., y Zeiger, E. (2010). *Plant physiology* (5th ed). Sinauer Associates.

Uber, T. M., Buzzo, A. J. D. R., Scaratti, G., Amorim, S. M., Helm, C. V., Maciel, G. M., Peralta, R. A., Moreira, R. D. F. P. M., Bracht, A., y Peralta, R. M. (2022). Comparative detoxification of Remazol Rrilliant Blue R by free and immobilized laccase of *Oudemansiella canarii*. *Biocatalysis and Biotransformation*, *40*(1), 17-28. https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1835873

Virk, A. P., Sharma, P., y Capalash, N. (2012). Use of laccase in pulp and paper industry. *Biotechnology Progress*, *28*(1), 21-32. https://doi.org/10.1002/btpr.727

Viswanath, B., Rajesh, B., Janardhan, A., Kumar, A. P., y Narasimha, G. (2014). Fungal laccases and their applications in bioremediation. *Enzyme Research*, 1-21. https://doi.org/10.1155/2014/163242

Webster, J., y Weber, R. (2012). *Introduction to fungi* (3. ed., 5. print). Cambridge Univ. Press.

Xu, D., Li, R., y Deng, S. (2020). Study on Separation and Purification the Secondary Metabolites of *Oudemansiella mucida*. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *782*(2), 022008. https://doi.org/10.1088/1757-899X/782/2/022008

Xu, F., Li, Z., Liu, Y., Rong, C., y Wang, S. (2016). Evaluation of edible mushroom *Oudemansiella canarii* cultivation on different lignocellulosic substrates. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *23*(5), 607-613. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.07.001

Yilmaz, N., Solmaz, M., Türkekul, İ., y Elmastaş, M. (2006). Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey. *Food Chemistry*, *99*(1), 168-174. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.017

Zhang, H., Liu, X., Liu, B., Sun, F., Jing, L., Shao, L., Cui, Y., Yao, Q., Wang, M., Meng, C., y Gao, Z. (2023). Synergistic degradation of Azure B and sulfanilamide antibiotics by

the white-rot fungus *Trametes versicolor* with an activated ligninolytic enzyme system. *Journal of Hazardous Materials*, *458*, 131939. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131939

Zou, S., Lee, Y. Y., Xie, X., Wang, Y., y Zhang, Z. (2023). Characterization, fractionation, and compatibility properties of Litsea cubeba kernel oil with potential value for industrial application as a lauric acid-based oil source. *Industrial Crops and Products*, *194*, 116295. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116295

Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., y Van 'T Riet, K. (1990). Modeling of the Bacterial Growth Curve. *Applied and Environmental Microbiology*, *56*(6), 1875-1881. https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1875-1881.1990

6. Anexo

Tabla nomenclatura ácidos grasos. Datos tomados de Lipid Web. https://www.lipidmaps.org/.

Abreviación (Número de carbonos/Insaturación)	Nombre común	Nombre sistemático
C10:0	Ácido cáprico	Ácido decanoico
C12:0	Ácido láurico	Ácido dodecanoico
C13:0	-	Ácido tridecanoico
C14:0	Ácido mirístico	Ácido tetradecanoico
C14:1	Ácido miristoleico	Ácido tetradecenoico
C15:0	-	Ácido pentadecanoico
C15:1 (n-10)	-	Ácido *cis*-10-pentadecenoico
C16:0	Ácido palmítico	Ácido hexadecanoico
C16:1 (*n*-7)	Ácido palmitoleico	Ácido *cis*-9-hexadecenoico
C17:0	Ácido margárico	Ácido hepadecanoico
C17:1	-	Ácido heptadecenoico
C18:0	Ácido esteárico	Ácido octadecanoico
C18:1 (*n*-9)	Ácido oleico	Ácido *cis*-9-octadecenoico
C18:2 (*n*-6)	Ácido linoleico	Ácido *cis*,*cis*-9,12-octadecadienoico
C18:3 (*n*-3)	Ácido α-linolénico	Ácido *cis*,*cis*,*cis*-9,12,15 octadecatrienoico

Referencia: *n*, posición de primera insaturación.