

Aislamiento de cepas fúngicas de la agroindustria azucarera: capacidad de producción de amilasas, dextranasas y lacasas

Serafín Pérez Contreras¹, Dora Angélica Avalos de la Cruz¹, Manuel Alejandro Lizardi Jiménez², José Andrés Herrera Corredor¹, Obdulia Baltazar Bernal¹ y Ricardo Hernández Martínez^{3*}

¹Colegio de Postgraduados campus Córdoba, Amatlán de los Reyes, Ver. CP 94946.

²SECIHTI-Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Sierra Leona 550, C P 78210 San Luis Potosí, México.

³SECIHTI-Colegio de Postgraduados Córdoba, Amatlán de los Reyes, Ver. CP 94946,

*odracirhema@gmail.com

Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo aislar y caracterizar cepas fúngicas nativas de biomasa de caña de azúcar con potencial para producir enzimas de interés industrial, incluyendo amilasas, dextranasas y lacasas. Los aislados fúngicos fueron aislados a partir de bagazo y hojas de caña de azúcar mediante siembra directa y fueron purificadas realizando subcultivos en agar de papa y dextrosa. La caracterización morfológica reveló que los aislados AB, TH y TB tienen características similares a las reportadas para los géneros *Aspergillus* y *Trichoderma*, ampliamente reportados con capacidad de producción enzimática. Los ensayos enzimáticos cualitativos demostraron que todos los aislados tienen actividad amilasa, AB y TH producen dextranasa, mientras que todas fueron negativas para actividad lacasa. Los resultados concuerdan con reportes sobre el potencial de las especies de *Trichoderma* y *Aspergillus* para la producción de enzimas. Este estudio subraya la importancia de utilizar los recursos microbianos locales para la producción de enzimas, ofreciendo soluciones sostenibles para aplicaciones agroindustriales.

Palabras Claves: Enzimas hidrolíticas, Aislados fúngicos, *Aspergillus*, cepas nativas

Abstract

The objective of this study was to isolate and characterize native fungal strains from sugarcane biomass with the potential to produce enzymes of industrial interest, including amylases, dextranases, and laccases. The fungal isolates were isolated from sugarcane bagasse and leaves by direct inoculation and were purified by subculturing on potato and dextrose agar. Morphological characterization revealed that isolates AB, TH, and TB have characteristics similar to those reported for the genera *Aspergillus* and *Trichoderma*, widely reported to have enzyme production capacity. Qualitative enzyme assays demonstrated that all isolates showed amylase activity, while AB and TH also showed dextranase production, and all were negative for laccase activity. The results are consistent with reports on the potential of *Trichoderma* and *Aspergillus* species for enzyme production. This study highlights the importance of using local microbial resources for enzyme production, offering sustainable solutions for agro-industrial applications.

Key Words: Hydrolytic enzymes, Fungal isolates, Qualitative tests, Native strains

Introducción

Las enzimas son biocatalizadores de origen biológico con amplias aplicaciones en bioprocesos e industrias, caracterizándose por ser productos amigables con el medio ambiente (Nargotra *et al.*, 2022). A nivel industrial, son producidas principalmente por bacterias y hongos, aunque las enzimas fúngicas presentan ventajas adicionales como su naturaleza extracelular lo que facilita su recuperación, la resistencia a condiciones extremas de temperatura pH, entre otras, pueden producirse con altos rendimientos a partir de residuos agroindustriales (Nargotra *et al.*, 2022). La importancia económica de estos biocatalizadores es notable, ya que su mercado alcanzó en años recientes un valor estimado de 7,000 millones de dólares (Leite *et al.*, 2021). No obstante, su producción puede verse limitada por factores como la estabilidad o complejidad estructural particularmente cuando presentan múltiples dominios funcionales, plegamientos tridimensionales difíciles de mantener, alta heterogeneidad conformacional o regiones sensibles a condiciones ambientales (Arregui *et al.*, 2019). Entre las enzimas de mayor interés se encuentran proteasas, lipasas, amilasas, celulasas, xilanasas, lacasas y dextranasas, debido a sus aplicaciones en industrias como la alimentaria, farmacéutica, papelera, azucarera, textil y en procesos de biorremediación (Da Silva *et al.*, 2019; Hasan *et al.*, 2023; Juntarachot *et al.*, 2020; Liu y Kokare, 2023).

Dentro de este grupo, las amilasas (α , β y γ) son enzimas hidrolíticas que degradan almidón en productos como dextrinas, oligosacáridos y maltosa (Vieira y Delerue-Matos, 2020). Tienen aplicaciones en la producción de jarabes de glucosa y maltosa, la reducción de viscosidad en jarabes de azúcar, la clarificación de jugos, la industria cervecera y la panificación (Liu y Kokare, 2023). Las amilasas fúngicas, producidas por géneros como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Thermomyces* y *Mucor*, resultan especialmente valiosas debido a la secreción extracelular y a la capacidad de las hifas para penetrar sustratos sólidos, favoreciendo la hidrólisis (Farooq *et al.*, 2021).

Por su parte, las lacasas son oxidasas que contienen varios átomos de cobre en su estructura que les permiten oxidar los compuestos fenólicos y no fenólicos de la lignina, así como diversos contaminantes

recalcitrantes, lo que les confiere gran interés en aplicaciones ambientales e industriales (Debnath y Saha, 2020). Su versatilidad se amplía mediante el empleo de mediadores redox que transfieren los electrones hacia compuestos que normalmente no pueden acceder al sitio activo (Chmelová *et al.*, 2022). Estas enzimas se producen en bacterias, plantas y, con mayor eficacia, en hongos de los géneros *Trametes*, *Pleurotus* y *Aspergillus*, siendo útiles en la biorremediación, el tratamiento de aguas residuales, la decoloración de tintes, y como auxiliares tecnológicos en la industria alimentaria (Hasan *et al.*, 2023; Singh y Gupta, 2020).

Finalmente, las dextranasas hidrolizan los enlaces α -(1,6)-glucosídicos del dextrano, un polisacárido producido durante la fermentación bacteriana en caña de azúcar y que afecta negativamente el proceso industrial por incrementar la viscosidad de jugos y mieles, alterar la cristalización y dañar los equipos (Tanoue Batista *et al.*, 2021). Aunque estas enzimas tienen aplicaciones en las industrias azucarera, alimentaria y farmacéutica, su uso aún es limitado debido a los altos costos de producción. Sin embargo, los hongos representan fuentes importantes de dextranasas, especies como *Aspergillus niger*, *Chaetomium gracile* y diversas especies de *Penicillium* han sido reportadas como productoras eficientes (Hu *et al.*, 2023; Juntarachot *et al.*, 2020).

En este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo aislar y caracterizar microorganismos nativos de caña de azúcar con potencial para producir amilasas, lacasas y dextranasas, lo que contribuirá al aprovechamiento de recursos locales para aplicaciones industriales y biotecnológicas.

Materiales y Métodos

Aislamiento de cepas fúngicas

Fueron aisladas cepas fúngicas tomando como fuentes de aislamiento bagazo y hojas de caña de azúcar, recolectados en el Colegio de Postgraduados campus Córdoba. Estas fuentes fueron sometidas a un proceso de cámara húmeda a 30 °C durante 7 días, para promover la activación de las cepas nativas. Posteriormente, las muestras fueron sembradas directamente sobre cajas Petri con agar cloranfenicol, rosa de bengala y diclorán y mantenidas a 30° C hasta el desarrollo de la

biomasa (CRBD) (Afolabi *et al.*, 2020; Martínez-Salgado *et al.*, 2021).

Purificación de las cepas

A partir de estas muestras fueron seleccionadas, para su purificación, cepas que presentaron características similares a géneros como *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Fusarium* o *Penicillium*, reportados como buenos productores de enzimas (Ire *et al.*, 2021; Juntarachot *et al.*, 2020; A. Singh *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2019). Para la etapa de purificación, fueron realizados subcultivos mediante la técnica de punta de hifa en cajas Petri con agar de papa y dextrosa (APD), incubándolas a 30 °C por 5 días (Lacerda *et al.*, 2018).

Caracterización morfológica de las cepas

Las cepas puras fueron caracterizadas mediante la observación de sus características microscópicas, como la morfología de hifas, conidios y conidióforos, utilizando la tinción con azul de algodón. Además, fueron analizadas sus características macroscópicas de colonia, tales como el color del micelio, color de los conidios, margen, forma, elevación, superficie, presencia de pigmentos y distintos tipos de secreciones, que pueden manifestarse como exudados líquidos, gotas cristalinas, compuestos viscosos o metabolitos coloreados (Savín-Molina *et al.*, 2021).

Conservación de cepas aisladas

Para la conservación de las cepas fúngicas aisladas, estas se resembraron en tubos inclinados con APD e incubadas a 30 °C durante 3 días. Posteriormente, los conidios se recuperaron con solución estéril de Tween 20 (0.02% v/v) y emplearon para inocular matraces Erlenmeyer de 250 mL con 50 mL de APD, los cuales se incubaron a 30 °C durante 5 días. Al término de este periodo, los conidios y el micelio fueron cosechados con 10 mL de solución estéril de leche descremada (10% p/v). La suspensión obtenida, con una concentración mínima de 2×10^8 conidios/mL cuantificada en cámara de Neubauer, fue separada en crioviales y almacenada en congelación a -72 °C. Posteriormente, la suspensión fue liofilizada en un equipo FreeZone Plus 4.5 Liter Cascade Benchtop Freeze Dry System (Labconco, Kansas City, Missouri, USA) a -42 °C y 0.189 mBar durante 24–48 h. Los preservados

fueron mantenidos a -4 °C y su viabilidad fue comprobada mediante reactivación en cajas Petri de APD una vez al mes, los preservados fueron mantenidos en el laboratorio hasta su uso (Stefanello *et al.*, 2019).

Pruebas para la producción de enzimas amilasas, dextranasas y lacasas

Lacasas y amilasas

Para evaluar el potencial de los aislados fúngicos en la producción de enzimas lacasas, las cepas fueron sembradas en cajas Petri con agar extracto de malta (AEM) suplementado con 0.03% (v/v) de guayacol como sustrato indicador. Las cajas inoculadas fueron incubadas a 30 °C por 7 días para detectar la presencia de lacasas mediante un cambio en la coloración del medio (Pourkhanali *et al.*, 2021).

Para evaluar la producción de amilasas, las cepas fueron inoculadas en cajas Petri con medio Czapek-Dox y almidón soluble (200 g/L), ajustando el pH a 6.5 y manteniéndolas en incubación por 4 días. Posteriormente, las cajas Petri fueron inundadas con solución de yodo al 1% durante 10 min para revelar las zonas claras alrededor del hongo (halo de hidrólisis) (Das *et al.*, 2020).

Dextranasas

Para evaluar el potencial de los aislados fúngicos en la producción de dextranasas, las cepas fueron inoculadas en cajas Petri con medio de detección de dextranasas (DTD) compuesto por (g/L): 5 dextrano (T20), 2 K₂HPO₄, 2 KH₂PO₄, 3 peptona y 3 extracto de levadura, ajustado a un pH inicial de 7.4. Las cajas inoculadas fueron incubadas a 37 °C durante 24 h. La producción de dextranasas fue evidenciada por la formación de zonas claras de hidrólisis alrededor de las colonias (Zohra *et al.*, 2013).

Resultados y discusión

Aislamiento y caracterización de las cepas fúngicas

A partir de los muestreos se seleccionaron tres aislados fúngicos para su estudio: etiquetados como HB1 y HB2, provenientes de bagazo de caña de azúcar, y HH1, aislado de hojas de caña de azúcar (Fig.1). El aislado HB1 se caracterizó por un micelio blanco con conidios verde limón, forma filamentosa, margen filiforme, elevación plana, superficie granular y la producción de un exudado y un pigmento amarillo en el medio. Por su parte, HB2 presentó un micelio incoloro con conidios

negros, forma circular, margen entero, elevación crateriforme, superficie granular y una coloración crema en el medio. Finalmente, el aislado HH1 mostró un micelio blanco con conidios amarillos, forma circular,

margen entero, elevación crateriforme, superficie concéntrica y generó una ligera coloración oscura en el medio de cultivo (Tab. 1).

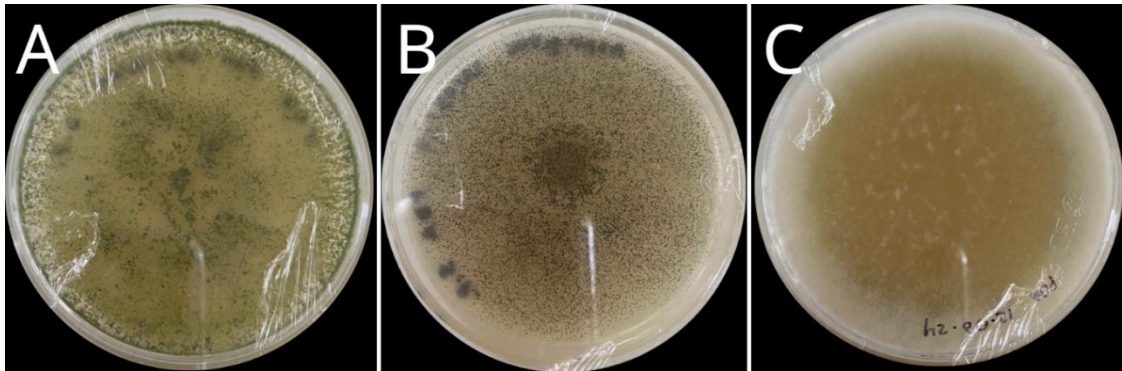


Figura 1. Características macroscópicas de los aislados fúngicos obtenidos de caña de azúcar: A: Hongo de bagazo 1 (HB1), B: Hongo de bagazo 2 (HB2) y C: Hongo de Hojas 1 (HH1). ¿Medio? ¿Condiciones de incubación?

Tabla 1. Características macroscópicas presentes en colonias de aislados fúngicos de caña de azúcar.

Aislado	Color de micelio	Color de conidios	Margen	Forma	Elevación	Superficie	Pigmentos	Secreción
Hongo de Bagazo 1 (HB1)	Blanco	Amarillo	Entero	Circular	Crateriforme	Concéntrica	Sin pigmentos en micelio y un color ligeramente oscuro en el medio.	-
Hongo de Bagazo 2 (HB2)	Incoloro	Negro	Entero	Circular	Crateriforme	Granular	Color crema en el medio	-
Hongo de Hojas 1 (HH1)	Blanco	Verde limón	Filiforme	Filamentosa	Plana	Granular	Amarillo en medio de cultivo	Presencia de exudado

En la caracterización microscópica, los aislados HH1 y HB1 (Fig. 2) mostraron estructuras reproductivas congruentes con las descritas para el género *Trichoderma* (renombrándose como TH y TB respectivamente). Entre ellas destacan conidióforos hialinos, muy ramificados y no verticilados; fiálides solitarias o agrupadas; así como conidios (fiálosporas) hialinos, unicelulares y ovoides, dispuestos en pequeños racimos terminales. Además, estos aislados se distinguen por su rápido crecimiento y la formación de manchas verdes de conidios, características que corresponden a especies saprófitas comunes en suelos y en biomasa lignocelulolítica (Barnett y Hunter, 1972).

Por su parte, el aislado HB2 presentó estructuras típicas del género *Aspergillus* (renombrándose como AB), tales como conidióforos erguidos, simples, terminados en una vesícula globosa o clavada, con fiálides dispuestas en el ápice o distribuidas radialmente. Los conidios observados fueron unicelulares, globosos y dispuestos en cadenas basipétalas secas, con tonalidades oscuras en masa. La disposición circundante de los conidios en la vesícula sugiere afinidad con el subgénero *Circumdati*, mientras que la coloración negra de los conidios indica una posible pertenencia a la sección *Nigri* (Barnett y Hunter, 1972; Mohamed *et al.*, 2021).

Artículos



Figura 2. Características microscópicas de los aislados fúngicos obtenidos de caña de azúcar. A: *Trichoderma* de Hoja (TH), B: *Trichoderma* de Bagazo (TB), C: *Aspergillus* de Bagazo (AB).

Estos resultados coinciden con lo reportado por Mendoza-Infante *et al.*, 2021, quienes encontraron especies de los géneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Trichoderma* en aislados de paja de caña de azúcar. Así mismo, *Trichoderma* es un género de hongos filamentosos ubicuo, que cuenta con un sinnúmero de especies de naturaleza saprofita, por lo que es común encontrarlo en biomasa lignocelulósica (Asad, 2022), como lo son las hojas, tallos y bagazo de caña de azúcar. Por otra parte, Gebbie *et al.* en 2020 2021, realizaron un estudio para la identificación de la microbiota presente en una pila de bagazo de caña, encontrando hasta 10

especies distintas del género *Aspergillus* y 9 especies del género *Penicillium*.

Ensayo para la producción de enzimas amilasas, dextranasas y lacasas

En la tabla 2, se presentan los resultados obtenidos de los tres aislados fúngicos para los distintos grupos enzimáticos mencionados anteriormente. Cabe destacar que los tres aislados mostraron potencial para la producción de amilasas, sin embargo, ningún aislado presentó producción de lacasas. También se resalta que el aislado TB únicamente presentó potencial para la producción amilasas.

Tabla 2. Resultados de las pruebas cualitativas para determinar la capacidad de producción de enzimas en caja Petri.

Aislado	Grupo enzimático		
	Amilasas	Dextranasas	Lacasas
<i>Aspergillus</i> de Bagazo (AB)	+	+	-
<i>Trichoderma</i> de Hoja (TH)	+	+	-
<i>Trichoderma</i> de Bagazo (TB)	+	-	-

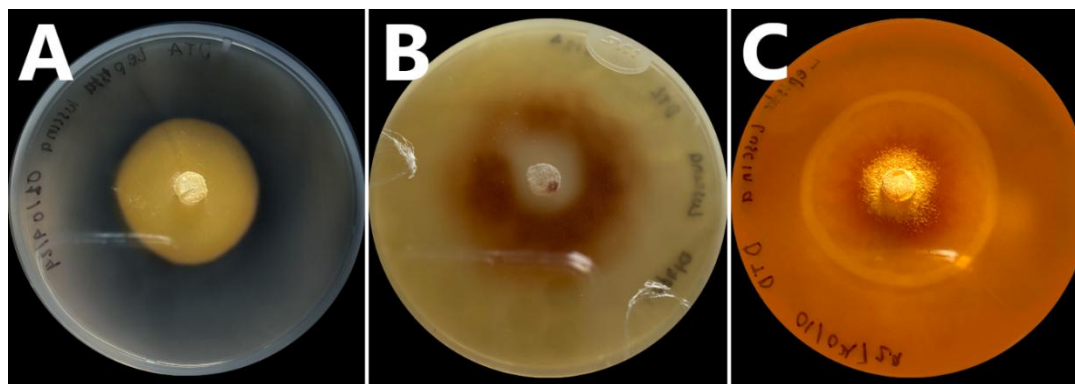


Figura 3. Resultados representativos en pruebas cualitativas A: Amilasas, B: Lacasas, C: Dextranasas.

La capacidad de especies del género *Trichoderma* para la producción de distintos grupos enzimáticos ha sido ampliamente reportada, sin embargo la mayoría de los estudios se han enfocado en celulasas (Legodi *et al.*, 2023, Castrillo *et al.*, 2021 y Guruk y Karaaslan, 2020). Además se ha reportado que especies como *T. harzianum* y *T. virens* tienen capacidad para la producción de xilanasas (Dhaver *et al.*, 2022; Istiqomah *et al.*, 2022). Así mismo existen reportes como el de Gillet *et al.* en 2023, que emplearon una cepa de *T. stromaticum* para producir amilasas en un sistema de fermentación en estado sólido.

Por otra parte, especies del género *Aspergillus* como *A. oryzae*, *A. fumigatus*, *A. niger* y *A. heteromorphus*, han sido reportadas para la producción de amilasas, dextranasas, celulasas y xilanasas (Balakrishnan *et al.*, 2021; Fadel *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2022). Esto estaría en concordancia con los resultados obtenidos para el aislado AB.

Conclusiones

El presente estudio evidencia el potencial de aislados fúngicos nativos de biomasa de caña de azúcar como fuentes de enzimas de interés industrial. En particular, se resalta la capacidad de géneros como *Trichoderma* y *Aspergillus* para producir amilasas y dextranasas que cuentan con aplicaciones biotecnológicas, lo que abre la posibilidad de aprovechar recursos microbianos locales en estrategias sostenibles para la valorización agroindustrial.

Referencias

Afolabi, C. G., Ezekiel, C. N., Ogunbiyi, Abimbola. E., Oluwadairo, O. J., Sulyok, M., y Krska, R. (2020). Fungi and mycotoxins in cowpea (*Vigna unguiculata* L) on Nigerian markets. *Food Additives y Contaminants: Part B*, 13(1), 52–58. <https://doi.org/10.1080/19393210.2019.1690590>.

Arregui, L., Ayala, M., Gómez-Gil, X., Gutiérrez-Soto, G., Hernández-Luna, C. E., Herrera De Los Santos, M., Levin, L., Rojo-Domínguez, A., Romero-Martínez, D., Saparrat, M. C. N., Trujillo-Roldán, M. A., y Valdez-Cruz, N. A. (2019). Laccases: Structure, function, and potential application in water bioremediation. *Microbial Cell Factories*,

18(1), 200. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1248-0>

Asad, S. A. (2022). Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases—A review. *Ecological Complexity*, 49, 100978. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2021.100978>

Balakrishnan, M., Jeevarathinam, G., Kumar, S., Muniraj, I., y Uthandi, S. (2021). Optimization and scale-up of α -amylase production by *Aspergillus oryzae* using solid-state fermentation of edible oil cakes. *BMC biotechnology*, 21(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12896-021-00686-7>

Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (3rd ed.). Burgess Publishing Company.

Castrillo, M. L., Bich, G. Á., Amerio, N. S., Rodríguez, M. D., Zapata, P. D., y Villalba, L. L. (2021). Assessment of cellulase complex secretory capacity of *Trichoderma* strains and morphological and molecular identification of the isolate with the highest enzymatic secretion capacity: Cellulase complex secretory capacity of *Trichoderma* strains. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 10(5), e1357–e1357. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.1357>

Chmelová, D., Legerská, B., Kunstová, J., Ondrejovič, M., y Miertuš, S. (2022). The production of laccases by white-rot fungi under solid-state fermentation conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(2), 21. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03207-y>

Da Silva, D. S., Dantzger, M., Assis, M. A., Gallardo, J. C. M., Teixeira, G. S., Missawa, S. K., Domingues, R. R., Carazzolle, M. F., Lunardi, I., Leme, A. F. P., Pereira, G. A. G., y Parreiras, L. S. (2019). Lignocellulolytic characterization and comparative secretome analysis of a *Trichoderma erinaceum* strain isolated from decaying sugarcane straw. *Fungal Biology*, 123(4), 330–340. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.01.007>

Das, S., Samanta, P., y Uday, U. S. P. (2020). Isolation and characterization of amylase

producing fungal strain. *Journal of Environmental and Sociobiology*, 17(2), 1–7.

Debnath, R., y Saha, T. (2020). An insight into the production strategies and applications of the ligninolytic enzyme laccase from bacteria and fungi. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 26, 101645. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101645>

Dhaver, P., Pletschke, B., Sithole, B., y Govinden, R. (2022). Isolation, screening, preliminary optimisation and characterisation of thermostable xylanase production under submerged fermentation by fungi in Durban, South Africa. *Mycology*, 13(4), 271–292. <https://doi.org/10.1080/21501203.2022.2079745>

Dhaver, P., Pletschke, B., Sithole, B., y Govinden, R. (2022b). Isolation, screening, preliminary optimisation and characterisation of thermostable xylanase production under submerged fermentation by fungi in Durban, South Africa. *Mycology*, 13(4), 271–292. <https://doi.org/10.1080/21501203.2022.2079745>

Fadel, M., Motawe, F. H., y Roshdy, A. M. (2020). Production of dextranase by *Aspergillus fumigatus* NRC-F103 and its application in cane juice treatment and enhancing ethanol production from sugarcane molasses. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 19(3), 283–290. https://doi.org/10.4103/epj.epj_16_20

Farooq, M. A., Ali, S., Hassan, A., Tahir, H. M., Mumtaz, S., y Mumtaz, S. (2021). Biosynthesis and industrial applications of α -amylase: A review. *Archives of Microbiology*, 203(4), 1281–1292. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02128-y>

Gebbie, L., Dam, T. T., Ainscough, R., Palfreyman, R., Cao, L., Harrison, M., O'Hara, I., y Speight, R. (2020). A snapshot of microbial diversity and function in an undisturbed sugarcane bagasse pile. *BMC Biotechnology*, 20(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00609-y>

Gillet, S. A., Silva, M. N., Carvalho, E. A., Da Silva, E. G. P., Dos Santos Moreau, P., Uetanabaro, A. P. T., y Da Costa, A. M. (2023). Utilization of Peach-palm waste for

cost-effective amylase production by *Trichoderma stromaticum*: Stability and industrial potential. *Mycology*, 1–12. <https://doi.org/10.1080/21501203.2023.2276728>

Guruk, M., y Karaaslan, M. (2020). Production and Biochemical Characterization of Cellulase Enzyme by *Trichoderma* Strains from Harran Plain. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 3(3), 258–274. <https://doi.org/10.38001/ijlsb.756818>

Hasan, S., Anwar, Z., Khalid, W., Afzal, F., Zafar, M., Ali, U., Refai, M. Y., Afifi, M., AL-Farga, A., y Aljobair, M. O. (2023). Laccase Production from Local Biomass Using Solid State Fermentation. *Fermentation*, 9(2), 179. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020179>

Hu, X., Xia, B., Ru, W., Zhang, Y., Yang, J., y Zhang, H. (2023). Research progress on structure and catalytic mechanism of dextranase. *eFood*, 4(1), e60. <https://doi.org/10.1002/efd2.60>

Ire, F. S., Chima, I. J., y Ezebuoro, V. (2021). Enhanced xylanase production from UV-mutated *Aspergillus niger* grown on corn cob and sawdust. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101869. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101869>

ISTIQOMAH, L., CAHYANTO, M. N., y ZUPRIZAL, Z. (2022a). Xylanase production by *Trichoderma virens* MLT2J2 under solid-state fermentation using corn cob as a substrate. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(12). <https://smujo.id/biodiv/article/view/12602>

Juntarachot, N., Kantachote, D., Peerajan, S., Sirilun, S., y Chaiyasut, C. (2020). Optimization of Fungal Dextranase Production and Its Antibiofilm Activity, Encapsulation and Stability in Toothpaste. *Molecules*, 25(20), 4784. <https://doi.org/10.3390/molecules25204784>

Lacerda, L. T., Gusmão, L. F. P., y Rodrigues, A. (2018). Diversity of endophytic fungi in *Eucalyptus microcorys* assessed by complementary isolation methods. *Mycological Progress*, 17(6), 719–727. <https://doi.org/10.1007/s11557-018-1385-6>

Legodi, L. M., La Grange, D. C., y van Rensburg, E. L. J. (2023). Production of the Cellulase Enzyme System by Locally Isolated *Trichoderma* and *Aspergillus* Species Cultivated on Banana Pseudostem during Solid-State Fermentation. *Fermentation*, 9(5), 412.

Leite, P., Sousa, D., Fernandes, H., Ferreira, M., Costa, A. R., Filipe, D., Gonçalves, M., Peres, H., Belo, I., y Salgado, J. M. (2021). Recent advances in production of lignocellulolytic enzymes by solid-state fermentation of agro-industrial wastes. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 27, 100407. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.100407>

Liu, X., y Kokare, C. (2023). Microbial enzymes of use in industry. En *Biotechnology of Microbial Enzymes* (pp. 405–444). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-19059-9.00021-9>

Martínez-Salgado, S. J., Andrade-Hoyos, P., Romero-Arenas, O., Villa-Ruano, N., Landeta-Cortés, G., y Rivera-Tapia, J. A. (2021). Control in vitro de *Fusarium* sp. Asociado al cultivo de cebolla mediante *Trichoderma harzianum*. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 39(2). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2101-4>

Mendoza-Infante, N., Debernardi, H., Hidalgo-Contreras, J., Mugica-Álvarez, V., y Hernández-Martínez, R. (2021). Fungal microbiota of sugarcane straw and their ability to produce hydrolytic enzymes. *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*, 39(1), e223908. [https://doi.org/10.47280/RevFacAgron\(LUZ\).v39.n1.08](https://doi.org/10.47280/RevFacAgron(LUZ).v39.n1.08)

Mohamed, A. H., Balbool, B. A., y Abdel-Azeem, A. M. (2021). *Aspergillus* from Different Habitats and Their Industrial Applications. En A. M. Abdel-Azeem, A. N. Yadav, N. Yadav, y Z. Usmani (Eds.), *Industrially Important Fungi for Sustainable Development* (pp. 85–106). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-67561-5_3

Nargotra, P., Sharma, V., Lee, Y.-C., Tsai, Y.-H., Liu, Y.-C., Shieh, C.-J., Tsai, M.-L., Dong,

C.-D., y Kuo, C.-H. (2022). Microbial Lignocellulolytic Enzymes for the Effective Valorization of Lignocellulosic Biomass: A Review. *Catalysts*, 13(1), 83. <https://doi.org/10.3390/catal13010083>

Pourkhanali, K., Khayati, G., Mizani, F., y Raouf, F. (2021). Isolation, identification and optimization of enhanced production of laccase from *Galactomyces geotrichum* under solid-state fermentation. *Preparative Biochemistry y Biotechnology*, 51(7), 659–668. <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1848867>

Santos, G. B., de Sousa Francisco Filho, Á., da Silva Rodrigues, J. R., y de Souza, R. R. (2022). Cellulase production by *Aspergillus niger* using urban lignocellulosic waste as substrate: Evaluation of different cultivation strategies. *Journal of Environmental Management*, 305, 114431.

Savín-Molina, J., Hernández-Montiel, L. G., Ceiro-Catasú, W., Ávila-Quezada, G. D., Palacios-Espinosa, A., Ruiz-Espinoza, F. H., y Romero-Bastidas, M. (2021). Morphological characterization and biocontrol potential of *Trichoderma* species isolated from semi-arid soils. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 39(3). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2106-7>

Singh, A., Bajar, S., Devi, A., y Pant, D. (2021). An overview on the recent developments in fungal cellulase production and their industrial applications. *Bioresource Technology Reports*, 14, 100652. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100652>

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

Stefanello, R. F., Nabeshima, E. H., Iamanaka, B. T., Ludwig, A., Fries, L. L. M., Bernardi, A. O., y Copetti, M. V. (2019). Survival and stability of *Lactobacillus fermentum* and *Wickerhamomyces anomalus* strains upon lyophilisation with different cryoprotectant agents. *Food Research International*, 115, 90–94. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.044>

Tanoue Batista, M. C., Soccol, C. R., Spier, M. R., Libardi Junior, N., y Porto De Souza Vandenberghe, L. (2021). Potential application of dextranase produced by *Penicillium aculeatum* in solid-state fermentation from brewer's spent grain in sugarcane process factories. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102086. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102086>

Umar, A. (2021). Screening and evaluation of laccase produced by different *Trichoderma* species along with their phylogenetic relationship. *Archives of Microbiology*, 203(7), 4319–4327.

Vieira, E. F., y Delerue-Matos, C. (2020). Exploitation of *Saccharomyces cerevisiae* Enzymes in Food Processing and Preparation of Nutraceuticals and Pharmaceuticals.

En N. K. Arora, J. Mishra, y V. Mishra (Eds.), *Microbial Enzymes: Roles and Applications in Industries* (Vol. 11, pp. 41–62). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1710-5_2

Wang, F., Xu, L., Zhao, L., Ding, Z., Ma, H., y Terry, N. (2019). Fungal Laccase Production from Lignocellulosic Agricultural Wastes by Solid-State Fermentation: A Review. *Microorganisms*, 7(12), 665. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120665>

Zohra, R. R., Aman, A., Zohra, R. R., Ansari, A., Ghani, M., y Qader, S. A. U. (2013). Dextranase: Hyper production of dextran degrading enzyme from newly isolated strain of *Bacillus licheniformis*. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 2149–2153. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.044>